UNIVERSITE PAUL SABATIER - TOULOUSE

UNITES MEDICALES

ANNEE 1972 N° 5

Contribution à l'Etude du Test au Dinitrochlorobenzène dans l'exploration de l'Hypersensibilité de type retardé

THESE

Pour le Doctorat en Médecine

Présentée et soutenue publiquement en Janvier 1972

PAR

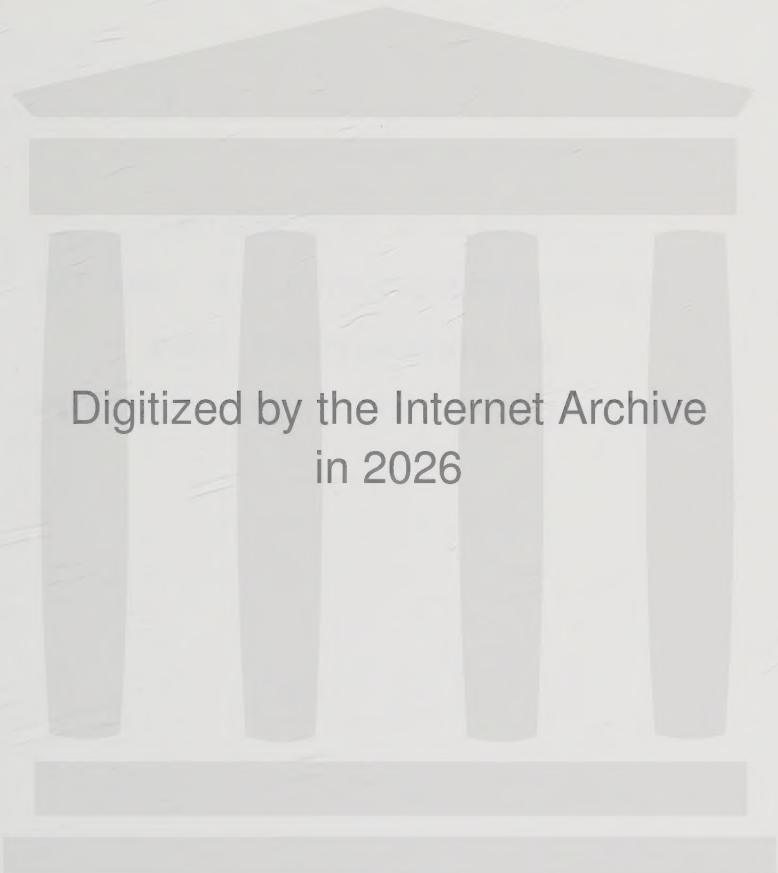
JEAN-PIERRE SOULET

Membres du Jury :

MM. J. MIGUERES	*Président*
J. DUCOS	
A. JOVER	*Assesseurs*
J. FABRE	
A. DUPRE	*Suppléant*

1972

IMPRIMERIE « LA TYPO-LINO »
14, Rue Cujas, 14
TOULOUSE


Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41549602_0041

CONTRIBUTION A L'ETUDE DU TEST AU DINITROCHLOROBENZENE DANS L'EXPLORATION DE L'HYPERSENSIBILITE DE TYPE RETARDE

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

UNIVERSITE PAUL SABATIER - TOULOUSE

UNITES MEDICALES

ANNEE 1972 N° 5

Contribution à l'Etude du Test au Dinitrochlorobenzène dans l'exploration de l'Hypersensibilité de type retardé

THESE

Pour le Doctorat en Médecine

Présentée et soutenue publiquement en Janvier 1972

PAR

JEAN-PIERRE SOULET

Membres du Jury :

MM. J. MIGUERES	*Président*
J. DUCOS	
A. JOVER	*Assesseurs*
J. FABRE	
A. DUPRE	*Suppléant*

1972

IMPRIMERIE « LA TYPO-LINO »
14, Rue Cujas, 14
TOULOUSE

UNIVERSITE PAUL SABATIER

Président de l'Université.... MM. LARENG
1er Vice-Président ..... MATHIS

2me Vice-Président ..... MARTIN
3me Vice-Président ..... MOUNIQ

TABLEAU DU PERSONNEL

UNITES D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE DES SCIENCES MEDICALES

Directeur de l'Unité de Sciences Méd. Toul.-Purpan — MONNIER

Directeur de l'Unité de Sciences Méd. Toul-Rangueil — ENJALBERT

DOYENS HONORAIRES

MM. LAZORTHES — CALVET.
BRUSTIER.

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. VALLOIS. BUGNARD. CALMETTES.
TAPIE. VINCENT. THOMAS
DELAS. MOREL. LAGROT.
RISER. BOUISSET. FABRE
DESFEORGES-MERIEL JAHIER

PROFESSEURS

Cliniq. Médic. et Cardiolog. . MM.	DARDENNE.
Clinique Médicale Sud.. ..	GADRAT.
Clinique Chirurgicale..	FICAT
Cliniq. Chirurg. A et Gynécol.	POULHES.
Clinique Chirugicale B et du Cancer..	GRIMOUD.
Clinique Chirurgicale Infantile et Orthopédique.	PASQUIE.
Clinique Chirurgicale Orthopédique et Traumatologique..	
Cliniq. de Chir. Cardio-Vasc.	ENJALBERT.
Cliniq. des Mal. cut. et syph.	BAZEX
Clin. des Mal. des Voies urin.	LHEZ.
Cliniq. des Mal. infectieuses.	ARMENGAUD M.
Clinique des Maladies Infantiles et Puériculture.. ..	SOREL.
Cliniq. Méd. de la Prem. Enf.	
Clinique de Neuro-chirurgie..	LAZORTHES G.
Cliniq. Neurolg. et Psychia.	GERAUD.
Clinique Obstétricale..	PONTONNIER.
Clin. Odonto-Stomatologique.	CADENAT.
Clinique Ophtalmologique. ..	DEODATI
Clinique O. R. L. et Chirurgie Maxillo-Faciale..	CALVET.
Clin. de Pneumo-Phtisiologie.	DELAUDE.
Clinique Rhumatologique.. ..	RUFFIE, René.
Accouch. et Obstét. sociale..	MONROZIES
Anatomie..	BASTIDE
Anatomie Pathologique.. ..	FABRE, Jacques.
Anatomie Appliquée	M .....
Anesthésie et réanimation ..	LARENG Louis
Bactériologie	ENJALBERT, Mme
Biophysique Médicale A.. ..	AUVERGNAT.
Biophysique Médicale B.. ..	BRU.
Chimie Biologique..	VALDIGUIE, Paul.
Electro-Radiologie	MARQUES.
Embryologie Générale.	BROUSSY, Jean.
Hématologie..	RUFFIE, Jacques.
Histologie..	BIMES.
Hydrologie Thérap. et Climat.	DENARD
Cardiologie clinique expérim.	CALAZEL
Hygiène et Médecine Sociale.	MONNIER.
Immunologie	DUCOS.
Médec. Lég. et Méd. du Trav.	PLANQUES.
Pathologie Chirurgicale.. ..	DAMBRIN.
Path. Gén. et Méd. Expérim.	BOULARD
Pathologie Médicale..	RIBAUT.
Physiologie.	LAPORTE, Yves
Physiologie Appliquée et Pharmacologie..	BAISSET.
Sémiologie et Clinique Médicale..	LAPORTE, Jacques
Thérapeutique.	DARNAUD

PROFESSEURS A TITRE PERSONNEL

Anatomie Pathologique.. .. MM.	BOUISSOU.
Biochimie Médicale..	DOUSTE-BLAZY.
Chirurgie Générale	GEDEON
Histologie et Embryologie. ..	GUILHEM.
Histologie et Embryologie ..	PLANEL
Médecine Générale	RASCOL.

UNIV. LEIDEN BIBL.

Oto-Rhino-Laryngologie.	CLAUX.
Physiologie.	MONTASTRUC.
Physiologie.	BESSOU
Pneumo-Phtisiologie..	MIGUERES.

PROFESSEURS SANS CHAIRE

Anatomie Pathologique.. .. MM.	FABRE, Jean
Bactériologie, Parasitologie, Virologie..	LARENG Mme M.B
Biochimie Médicale..	VALDIGUIE, Pierre.
Carcinologie..	ESTRADE.
Chirurgie Générale..	SARRAZIN.
Chirurgie Thoracique et Car- MM. dio-Vasculaire..	ESCHAPASSE.
Electro-Radiologie	PONS.
Electro-Radiologie	ROULLEAU.
Médecine générale et thérapeutique	BOLLINELLI
Médecine Générale	ARLET.
Pédiatrie..	DALOUS.
Neuro-Chirurgie..	ESPAGNO, Jacques
Psychiatrie	GAYRAL
Médecine Générale et Thérapeutique..	SUC.
Pédiatrie	REGNIER.
Médecine Générale	RIBET.

MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Anatomie et organogénèse. .	JUSKIEWENSKI S.
Anesthésiologie	VIRENQUE
Bactériologie-Virologie	DIDIER, Mme
Biophysique..	REGIS
	GUIRAUD Robert
Cardiologie	BONHOURE
Chirurgie générale.	ESCAT Jean
	COSTAGLIOLA
Chirurgie Thoracique et Cardio-Vasculaire	PUEL.
Dermatologie, Vénéréologie..	DUPRE
Gynécologie-Obstétrique	PONTONNIER G.
Histol., Embryol., Cytogénét.	SOLEILHAVOUP
Im. Hémat. Mal. du Sang. ..	BIERME Robert
Médecine générale et thérapeutique	BES.
Médecine interne..	FEDOU.
	LE TALLEC.
Médecine Légale..	GREZES-RUEFF.
Médecine du Travail	PUJOL M.
Néphrologie	CONTE J.
Neuro-Chirurgie	LAZORTHES Y.
Orthop., Traum., Chir. Plast.	UTHEZA Guy
Parasitologie..	LARROUY
Pédiatrie générale médicale.	ROCHICCIOLI P.
Pneumo-Phtisiologie..	ALBAREDE J.-L.
	JOVER
Physiologie	GERAL J.-P.
Physiologie	PAGES Bernard
Radiologie..	COMBES Pierre
Thér., Réan. méd., Rééduc. font. et Hydr.	SALVADOR M.
Urologie..	PONTONNIER P.

AGREGES

Chirurgie Générale..	GAUBERT.
Ophtalmologie..	BEC.

AGREGES LIBRES

Chirurgie Générale. .. .. .. MM.	SOUQUET.
Pathologie Chirurgicale.. ..	DIEULAFE.
Obstétrique.	ESPAGNO, Guy.
Pathologie Expérimentale.. ..	GLEIZES.

MAITRE DE CONFERENCES ASSOCIE

Psychiatrie	M. LABOUCARIE.

Secrétaire général de l'Université : M. PRINEAU J.-P.

La Faculté déclare n'être pas responsable des opinions émises par les candidats
(Délibération en date du 12 mai 1891)

A MES PARENTS

En témoignage de mon affection,

A MA FEMME

Avec tout mon amour.

A MON FILS GILLES

A LA MEMOIRE DE MON BEAU-PERE

A MA BELLE-MERE

A TOUTE MA FAMILLE

A TOUS MES AMIS

A NOTRE PRESIDENT DE THESE

MONSIEUR LE PROFESSEUR J. MIGUERES

Professeur de Pneumo-Phtisiologie
Médecin des Hôpitaux

Depuis que nous avons été externe dans votre service, nous avons pu apprécier la valeur de votre enseignement.

Votre rigueur scientifique, votre exigence de clarté et de précision seront toujours pour nous un haut exemple.

Nous vous remercions pour le grand honneur que vous nous faites aujourd'hui en acceptant de présider notre thèse, dont vous aviez bien voulu nous confier le sujet.

A NOTRE JURY DE THESE

MONSIEUR LE PROFESSEUR J. DUCOS

Professeur d'Immunologie à la Faculté de Médecine de Toulouse

Biologiste des Hôpitaux

Directeur Adjoint du Centre de Transfusion Sanguine

Chevalier de l'Ordre National du Mérite

Nous avons bénéficié de la qualité de votre enseignement à la Faculté.

Vos conseils, pour la réalisation de ce travail, nous ont été particulièrement précieux

Nous vous prions de croire à notre respectueuse gratitude.

MONSIEUR LE PROFESSEUR J. FABRE

Professeur d'Anatomie Pathologique

Biologiste des Hôpitaux

Vous nous avez accueilli à plusieurs reprises, au cours de notre travail, avec beaucoup de bienveillance.

Votre aide nous fut précieuse, et c'est un honneur pour nous de vous compter parmi nos juges.

MONSIEUR LE PROFESSEUR A. JOVER

Maître de Conférence Agrégé de Pneumo-Phtisiologie

Médecin des Hôpitaux

Vous nous avez prodigué, avec votre gentillesse coutumière, des conseils et des encouragements qui nous ont été d'un grand secours.

Croyez à notre respectueux et sincère attachement.

MONSIEUR LE PROFESSEUR A. DUPRE

Maître de Conférences Agrégé de Dermatologie-Vénéréologie

Médecin des Hôpitaux

Vous avez bien voulu vous intéresser à notre travail, et nous vous en remercions.

Nous sommes heureux de vous avoir dans notre Jury de Thèse.

A NOS MAITRES DE LA FACULTE ET DES HOPITAUX

A MONSIEUR LE DOCTEUR P. ABOU

Nous tenons à vous remercier tout particulièrement pour votre aide qui a permis la réalisation de ce travail.

Croyez à notre amicale reconnaissance.

A TOUS LES MEMBRES
DU SERVICE DE PNEUMO-PHTISIOLOGIE

A MADAME GABISSON

Votre aide nous fut indispensable.

Soyez-en remerciée.

A MADAME FOURCADE

A TOUT LE PERSONNEL
DE LA SALLE CHARLES-MOREL

PLAN DE CETTE ETUDE

INTRODUCTION

PREMIERE PARTIE : DONNEES PRELIMINAIRES

I. — RAPPEL IMMUNOLOGIQUE.

1) Hypersensibilité retardée dans la classification de GELL COOMBS.

2) Données cliniques.

3) Moyens d'exploration.

II. — RAPPEL HISTORIQUE.

1) *Notions pharmacologiques sur le Dinitrochlorobenzène.*

a) Formule.

b) Utilisation.

c) Toxicité.

d) Spécificité de l'allergie.

2) *Travaux expérimentaux.*

a) Dermites de contact expérimentales aux composés chimiques simples.

b) Techniques de sensibilisation du cobaye au DNCB.

c) Rôle des adjuvents.

d) Voie de pénétration du D N C B.

e) Etudes sur la tolérance immunitaire .

f) Autres haptènes utilisés pour induire une H.S.R.

3) *Applications chez l'homme* .

Deuxieme Partie : TRAVAUX PERSONNELS.

I. — Plate-forme d'etude.

II. — Protocole.

1) *Problèmes de technique.*

a) Sensibilisation.
b) Solution révélatrice et lecture du test.
c) Intérêt de la biopsie cutanée.

2) *Technique personnelle.*

a) Test de sensibilisation.
b) Test révélateur.
c) Lecture.
d) Biopsie cutanée.
e) Détails pratiques.

III. — Resultats.

1) *Témoins.*
2) *Syndromes immunodéficitaires.*
3) *Corrélations avec d'autres moyens d'exploration de l'H.S.R.*

a) Tests tuberculiniques.
b) Test de transformation blastique des lymphocytes.

IV. — Confrontations bibliographiques.

1) *Résultats obtenus chez les témoins*
2) *Résultats du test dans les affections susceptibles de dépression immunitaire.*

CONCLUSIONS

BIBLIOGRAPHIE

INTRODUCTION

L'intérêt grandissant des cliniciens pour l'immunopathologie s'explique par les progrès réalisés dans cette discipline depuis quelques années. Nous connaissons mieux, désormais, les mécanismes immunitaires normaux, et avons appris à cerner le domaine clinique des désordres immunitaires. D'autre part, nos moyens d'exploration de l'immunité se sont perfectionnés, permettant de disséquer, dans une certaine mesure, ses mécanismes.

Ainsi, pour étudier l'hypersensibilité de type retardé, (H S R), expression de l'immunité cellulaire, à côté des classiques tests cutanés, nous disposons, depuis peu, de techniques de laboratoire, tel le test de transformation blastique des lymphocytes ou le test d'inhibition des macrophages. Ces nouveaux tests apportent à l'exploration de l'immunité cellulaire une précision et une rigueur réservées jusqu'ici à l'immunité humorale. Malheureusement, leur pratique reste limitée, car ils ne sont réalisables que par des laboratoires très spécialisés.

C'est pourquoi, les tests cutanés, praticables au lit du malade, gardent leur intérêt en raison de leur simplicité. Cependant, leur principe même est discutable, dans la mesure où ils se proposent de révéler une H.S.R. anciennement acquise, vis-à-vis de tel ou tel antigène naturel (tuberculine, antigènes microbiens ou fongiques), alors que dans chaque cas particulier, la sensibilisation est elle-même hypothétique : le sujet n'a pas obligatoirement rencontré l'antigène en question dans son passé.

L'existence d'une anergie n'est donc pas, dans ces conditions, nécessairement synonyme de dépression de l'H.S.R. Inversement, la réponse anamnestique à l'antigène peut subsister alors que les possibilités de sensibilisation sont en réalité plus ou moins altérées au moment de l'examen.

Ces considérations ont amené un certain nombre d'auteurs à s'intéresser au test cutané au Dinitrochlorobenzène (D N C B). Ce composé chimique simple possède, en effet, des propriétés particulièrement propices à son emploi comme test épicutané d'H.S.R. : c'est un allergène puissant, spécifique de la peau, et les sensibilisations spontanées au produit sont exceptionnelles. Il doit donc permettre, théoriquement, de tester les capacités de réaction vis-à-vis d'un antigène nouveau jamais rencontré auparavant. Ajoutons qu'il est très peu toxique et, ce qui n'est pas à négliger, facile à obtenir chimiquement.

Cependant, la mise en œuvre du test lui-même soulève des problèmes pratiques de technique et d'interprétation parfois délicats qui l'ont fait accueillir avec réserve par certains auteurs.

Dans le présent travail, réalisé dans le Service du Professeur Migueres (Centre de Pneumologie de Purpan, Toulouse), nous nous sommes d'abord attachés à résoudre ces problèmes techniques, mais nous avons voulu aussi apprécier la valeur du test au D N C B dans l'exploration de l'H.S.R.

Notre étude porte sur un nombre total de 122 malades qui se divisent en deux groupes :

— un groupe ne comprenant que des affections réputées sans incidence sur l'H.S.R. (sujets témoins);

— un groupe réunissant des affections connues pour s'accompagner à des degrés divers, et par différents mécanismes d'une altération des fonctions immunitaires, sans préjuger si cette altération est la cause ou la conséquence de la maladie.

Nous avons pratiqué, chez chaque malade, un ou plusieurs tests cutanés au D N C B, ainsi qu'une ou plusieurs séries de tests tuberculiniques, ce qui nous a permis de comparer ces deux moyens d'exploration de l'H.S.R. et d'apprécier leurs valeurs respectives. De même, nous avons pu, chez un certains nombre de sujets du 2e groupe, comparer l'état de l'H.S.R., explorée par le D N C B, et l'aptitude du lymphocyte à se transformer en cellule blastique en présence d'un activateur non spécifique, la phytohémaglutinine.

Notre étude nous paraît de nature à permettre une évaluation de l'intérêt pratique du test au D N C B, notamment dans le pronostic de certains syndromes immunodéficitaires, comme les cancers de la sphère thoracique, la maladie de Hodgkin ou la sarcoïdose.

PREMIERE PARTIE

DONNEES PRELIMINAIRES

La première description d'une réaction d'H.S.R. est due à Koch, à la fin du siècle dernier. Mais la signification, le rôle, les mécanismes intimes du phénomène sont de connaissance beaucoup plus récente, et bien des points sont encore discutés.

D'autre part, l'histoire déjà longue du D N C B est en partie liée à celle de l'H.S.R., dont ce composé a permis d'élucider certains mécanismes, notamment par l'étude expérimentale de l'eczéma de contact chez l'animal.

C'est pourquoi, il nous a semblé indispensable de consacrer une première partie à des rappels :

— d'une part, un rappel immunologique, pour situer l'H.S.R. dans l'ensemble des réactions allergiques, ce qui nous permettra de montrer l'intérêt de son étude et de faire le point sur les moyens d'exploration actuels.

— d'autre part, un rappel historique des principaux travaux expérimentaux mettant en œuvre le D N C B, précédé de quelques notions pharmacologiques sur ce composé.

I. — RAPPEL IMMUNOLOGIQUE

1. - Hypersensibilite retardee dans la classification de Gell et Coombs.

Le terme d'« hypersensibilité » est synonyme de celui d'allergie, créé par Von Pirquet, en 1906, et qui désigne une « autre façon de réagir » d'un individu sensibilisé à une substance lorsqu'elle est réintroduite dans son organisme.

Les réactions allergiques sont nombreuses et obéissent à des mécanismes variés. Leur classification la plus pratique et celle de Gell et Coombs (20), qui distingue 4 types :

— *le type I* correspond aux réactions anaphylactiques et atopiques, qui se font par l'intermédiaire d'anticorps circulants, comme dans l'urticaire, l'asthme, le coryza spasmodique.

— *le type II* est celui des réactions cytotoxiques ou cytolytiques, avec anticorps circulants et intervention du complément. Les accidents transfusionnels entrent dans ce cadre.

— *le type III* correspond au phénomène d'Arthus où interviennent des complexes immuns qui fixent le complément. C'est le cas, entre autre, du poumon de fermier, de la maladie sérique.

— *le type IV* enfin, nous retiendra plus longuement puisqu'il s'agit de l'hypersensibilité de type retardé (H.S.R.).

Koch avait mis en évidence, en 1891, un changement de réactivité entre la primo-inoculation et la réinoculation d'une culture de bacilles tuberculeux chez le cobaye sain. La réaction de réinoculation, plus tardive que celle de l'anaphylaxie ou du phénomène d'Arthus est dite

retardée. On peut la provoquer en utilisant, pour la deuxième injection, un bouillon de culture débarrassé des corps bacillaires et contenant leurs constituants protidiques solubles (vieille tuberculine), mais l'animal doit être, au préalable, sensibilisé par les bacilles tuberculeux. L'hypersensibilité tuberculinique est spécifique et ne peut être déclenchée que par les protéines du bacille de Koch. Enfin, la voie d'introduction de la tuberculine intervient : alors que l'injection intraveineuse entraîne une hyperthermie, des hémorragies diffuses, un choc parfois mortel, l'injection intradermique se traduit, au bout de 24 à 48 heures, par une réaction érythémateuse au point d'injection, plus ou moins importante suivant le degré de sensibilisation.

Le mécanisme de l'H.S.R. n'avait pas été expliqué par Koch. En 1940, une expérience très importante de Landsteiner et Chase (39) devait faire avancer le problème. Alors que le transfert passif de l'H.S.R. n'avait jamais pu être obtenu par l'injection de sérum d'un animal sensibilisé au bacille de Koch, ces deux auteurs démontrèrent la possibilité de ce transfert chez un cobaye neuf par l'injection de cellules lymphoréticulaires d'exsudat péritonéal de cobaye sensibilisé. La durée de l'H.S.R. passive est d'autant plus longue que l'histocompatibilité est meilleure.

D'autres faits confirment le rôle essentiel du lymphocyte dans l'H.S.R. Les corticoïdes, les agents antimitotiques, la radiothérapie, le sérum antilymphocytaire qui détruisent les lympocytes, ont un effet dépresseur sur l'H.S.R., alors que les antihistamiques et l'héparine sont sans action.

On sait maintenant que l'H.S.R. dépend de l'immunité à médiation cellulaire. Au point d'injection de l'antigène interviennent des lympocytes particuliers, les lymphocytes — T ou thymodépendants ayant acquis leur originalité au contact du tissu thymique.

En fait, on distingue trois lignées de lymphocytes — T immunocompétents :

— les cellules mémoires,

— les cellules réactives à l'antigène,

— les petites lymphocytes cytotoxiques.

Des facteurs solubles, sécrétés par les cellules réactives à l'antigène, ou peut-être directement par les cellules mémoires, ont été individualisés :

— le L.N.P.F. augmente la perméabilité ganglionnaire,

— le M.F. (Mitogen Factor) fait entrer en mitoses des lymphocytes non immunologiquement activés,

— le M.I.F. (Migration Inhibing Factor) inhibe la migration des macrophages vis-à-vis desquels existe une sensibilisation.

Les petites lymphocytes cytotoxiques détruisent directement les cellules cibles par contact étroit, sans libération de substances solubles (24, 44).

La réaction locale est constituée essentiellement d'un infiltrat lympho-histiocytaire dans lequel l'afflux d'histiocytes (ou macrophages) est secondaire à la reconnaissance de l'antigène par les lymphocytes (24).

2. - Donnees cliniques.

Chez l'homme, l'H.S.R. se manifeste vis-à-vis de certains virus (oreillons), de bactéries (Bacille de Koch, bacille de Hansen, Brucelles, Treponéma pallidum, Rickettsies, agents de la lymphogranulomatose d'inoculation), des champignons (Histoplasma capsulatum, etc...).

Elle se manifeste également vis-à-vis de certaines substances chimiques simples, se comportant comme des haptènes : la combinaison de ces substances avec une protéine de l'organisme réalise un complexe immuno-

gène. C'est le cas du chrome dans l'eczéma des cimentiers. C'est également le cas du D N C B qui fait partie des composés chimiques simples qui ont permis précisément de dégager la notion d'haptène, comme nous le verrons plus loin.

Le rôle de l'H.S.R. dans le mécanisme de protection vis-à-vis des agents infectieux est discuté. Il n'y a pas de corrélation absolue entre l'apparition des facteurs solubles en présence de l'antigène, la cytotoxicité in vitro des lymphocytes, ou même la positivité des réactions cutanées et la destruction par hypersensibilité retardée des cellules porteuses des antigènes (24).

L'H.S.R. représente par contre le mécanisme fondamental du rejet des homogreffes ou greffes allogéniques (greffes de peau ou d'organes). C'est le principe de l'emploi du sérum antilymphocytaire.

Dans le cancer, la dépression de l'immunité cellulaire est un fait connu depuis longtemps. En 1926, en effet, Renaud (48) et Jousset (34) ont montré que les malades porteurs de tumeurs solides présentaient une tendance à l'anergie tuberculinique. Parmi les travaux plus récents confirmant ces résultats, citons, en Angleterre, ceux de Hugues et coll. (29); en France, ceux d'Israel et coll. (31) et de Migueres et coll. (42). La thèse récente d'Abou (1) montre qu'il existe un fléchissement significatif de l'index tuberculinique dans le cancer bronchique primitif, cette tendance s'accentuant au cours de l'évolution de cette affection. Ce phénomène a été retrouvé avec une plus grande fréquence encore dans la maladie de Hodgkin et dans les hémopathies (Reed, Shier et Kelly).

Selon Burnet (5), la dépression de l'immunité serait à l'origine du développement des cancers. En effet, en raison du grand nombre de divisions cellulaires qui se produisent durant la vie d'un organisme, des cellules anormales au point de vue génétique apparaissent très fréquemment par mutations. Grâce au mécanisme de

rejet des homogreffes, ces cellules, qui constituent autant de cancers virtuels, sont éliminées pratiquement en permanence.

L'apparition d'une tumeur pourrait s'expliquer soit par la virulence de certaines cellules mutantes, soit par la défaillance du mécanisme immunitaire d'élimination. Certains auteurs ont d'ailleurs observé que de nombreux agents cancérigènes sont également des immunodépresseurs (radiations ionisantes notamment). Cependant, il existe des substances cancérigènes qui n'ont pas d'effet immunodépresseur comme certains hydrocarbures.

A l'opposé de la théorie de la « surveillance immunitaire » de BURNET, certains auteurs considèrent que la dépression de l'immunité est secondaire au développement du cancer. On a remarqué que l'exérèse chirurgicale d'une tumeur est bien souvent suivie d'une consolidation de l'état immunitaire. Pour SILK MARK (49), le plasma des cancéreux contiendrait une substance qui inhiberait les fonctions immunitaires.

En tous cas, le fait que les processus immunitaires jouent un rôle important dans les néoplasies a conduit certains auteurs à réaliser des essais d'immunothérapie anticancéreuse, notamment dans le cancer bronchique et les leucoses. Mais, les résultats les plus intéressants dans ce domaine, ont été obtenus récemment (1970) par deux auteurs américains.

Au National Cancer Institute, D.-L. MORTON (30) a obtenu, sur un groupe de 8 malades, des rémissions complètes ou partielles de mélanomes par injection directe de B C G dans les nodules. L'absence de régression des tumeurs chez les malades ayant une réponse négative à la tuberculine suggère, d'après D.-L. MORTON, que le B C G n'exerce pas d'effet antitumoral direct, mais agit par H.S.R. à l'intérieur des nodules. De plus, ces études ont montré que les malades ayant un mélano-

me localisé pouvaient être sensibilisés au D N C B, alors que les malades qui n'ont pas eu de réponse présentaient une affection métastatique étendue. Or, les premiers (5 malades) ont présenté une régression complète dans 90 % des 184 nodules mélaniques ayant été traités par le B C G, tandis que chez les 3 malades anergiques au D N C B ou à la tuberculine, il n'y a pas eu de régression dans 214 nodules traités.

Les travaux de E. Klein (30), au Roswell Park Memorial Institute, à Buffalo (New York), confirment l'intérêt thérapeutique de l'induction d'une H.S.R. dans les lésions malignes de la peau. Deux agents chimiques sont utilisés par cet auteur : la Triethylène imine benzo quinone (T E I B) et le D N C B. L'induction d'une H.S.R. par ces deux agents a permis la destruction de plus de 95 % de kératoses prémalignes, de carcinomes basocellulaires superficiels et de carcinomes spino-cellulaires in situ, chez près de 100 malades, sans signe de récurrence pendant plus de 5 ans. Chez 18 malades, le transfert de l'immunité a pu être réalisé par injection sous-cutanée de leucocytes prélevés chez des malades ayant été sensibilisés à la T.E.I.B. et au D N C B. Après 8 à 24 heures, une réaction d'H.S.R. à chaque agent sensibilisant a pu être provoquée, permettant une résolution des néoplasmes cutanés. E. Klein remarque, enfin, que les réactions immunitaires ont apparemment une spécificité tissulaire, puisque les tumeurs autres que celles d'origine épidermique ont généralement présenté une réaction d'épreuve à la T E I B ou au D N C B identique à celle des tissus normaux ou n'ont pas réagi du tout.

Cette notion de spécificité tissulaire aurait deux conséquences: d'une part, la possibilité d'utiliser des allergènes cutanés comme le D N C B pour la destruction de métastases provenant de cancers cutanés; d'autre part, la nécessité, pour utiliser l'immunothérapie dans

des néoplasies provenant d'autres tissus, de trouver des agents provoquant une H.S.R. spécifique de ces tissus.

3. - Moyens d'exploration de l'H.S.R.

Jusqu'à une période récente, nous ne disposions pour explorer l'H.S.R. que des tests cutanés : épicutanéo, cuti, intradermo-réactions.

Depuis quelques années, des tests in vitro ont fait leur apparition :

— le test de transformation blastique des lymphocytes (T T B),

— le test de migration des leucocytes,

— le test de cytotoxicité in vitro.

Ces tests explorent la capacité du lymphocyte réactif d'induire une réponse d'hypersensibilité in vitro; d'autres moyens permettent de juger l'aptitude des lymphocytes à reconnaître l'antigène. Il s'agit de l'électrophorèse des lymphocytes, la fixation par le lymphocyte d'un antigène marqué, le test de formation des rosettes.

Mais tous ces tests in vitro, malgré leur intérêt évident et le développement qu'ils sont appelés à connaître, sont encore du domaine de laboratoires très spécialisés, voire du domaine de la recherche. C'est dire que les tests cutanés d'H.S.R. gardent, pour le clinicien, une valeur essentielle.

On sait qu'ils font appel à des antigènes naturels, microbiens ou fongiques. La tuberculine est sans doute le plus utilisé des antigènes microbiens, mais on peut en citer d'autres, par exemple C C B, streptocoque, proteus, anatoxine et, parmi les antigènes levuriques, monilia, trichophyton, épidermophyton.

La principale critique que l'on peut faire à ces tests cutanés découle du fait que l'H.S.R. comprend en réalité deux phénomènes : la sensibilisation, consé-

cutive à un premier contact avec l'antigène, et la révélation à l'occasion d'un contact ultérieur. Or, dans la pratique courante, les tests cutanés n'explorent que le deuxième phénomène. Par exemple, lorsqu'on pratique les tests tuberculiniques chez un sujet pour lequel on n'a pas la notion d'une primo-infection ou d'une maladie tuberculeuse, une réponse négative peut signifier : ou bien, le sujet n'a pas encore rencontre le B K, ou bien, l'ayant rencontré, il ne s'est pas sensibilisé (ou mal), ou bien encore son H.S.R. s'est déprimée secondairement. Ainsi, en l'absence d'un contrôle de la sensibilisation, l'anergie doit être interprétée avec prudence.

On ne peut, en effet, se prévaloir d'une sensibilisation systématique de tous les sujets vis-à-vis des antigènes naturels. En ce qui concerne les tests tuberculiniques, on peut même dire qu'ils perdent de leur valeur de référence, du moins dans les pays occidentaux, où l'index tuberculinique a baissé notablement au cours des dernières années.

Il faudrait donc, en toute rigueur, pour explorer l'H.S.R. par l'antigène tuberculinique, pratiquer d'abord la sensibilisation par le B C G et, ensuite, les tests tuberculiniques. Mais une telle technique serait longue et peu pratique.

Il existe une deuxième critique, en ce qui concerne les antigènes naturels microbiens et fongiques : ils ne sont pas spécifiques de la peau et même sont parfois de mauvais allergènes cutanés, ce qui explique qu'il existe une batterie de tests cutanés allant de l'épidermo-réaction à l'intradermo-réaction.

On voit donc tout l'intérêt que présente, sur le plan théorique, un test utilisant un allergène spécifiquement cutané, capable de sensibiliser dans un délai rapide la quasi totalité des individus, exceptionnellement rencontré dans les conditions naturelles et permettant par consé-

quent d'explorer les possibilités de sensibilisation actuelles d'un sujet, plutôt que la persistance d'une sensibilisation ancienne.

Un tel test existe depuis longtemps, puisque le D N C B a été proposé comme test d'H.S.R. avant la deuxième guerre mondiale. Mais il devait, pour justifier son inclusion dans l'arsenal du bilan immunitaire, faire la preuve de son efficacité, sa maniabilité, son innocuité. C'est à quoi nous sommes employés dans cette étude, après beaucoup d'autres.

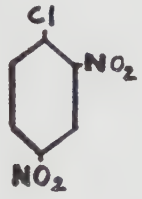
Mais d'abord, il nous faut présenter le D N C B lui-même et rappeler brièvement son histoire.

II. — RAPPEL HISTORIQUE

1. - Notions pharmacologiques sur le Dinitrochlorobenze.

a) *Formule :*

La formule du 1-chloro-2-4-dinitrobenzène est la suivante :



On écrit par abréviation D N C B (Dinitrochlorobenzène).

b) *Utilisation :*

La famille des dérivés nitrés et chloronitrés du Benzène comprend de nombreux corps, utilisés essentiellement comme fongicides, mais aussi dans diverses industries : peinture, colorants, caoutchouc, produits d'entretien, explosifs.

Le D N C B lui-même est d'usage très limité dans l'industrie et ne fait pratiquement pas partie de notre environnement. Il intervient dans la fabrication de certains produits antimites (9) et comme fongicide.

Aux Etats-Unis, il sert à la destruction des algues microscopiques dans les refroidisseurs d'appareils à air conditionné.

Adams et coll. (2) rapportaient récemment quatre cas de dermite de contact chez des ouvriers travaillant à l'entretien et la réparation de ces appareils. L'enquête

avait montré que le produit responsable était le « NACO 205 », contenant 22 % de D N C B, ajouté à l'eau des refroidisseurs pour détruire les algues et les champignons microscopiques. Ces auteurs insistent sur la nécessité de mettre au point des systèmes hermétiquement clos pour ce type d'appareil, très répandu aux Etats-Unis, afin d'éviter tout contact avec le produit incriminé.

c) *Toxicité :*

Le D N C B est peu toxique, la dose mortelle chez l'animal est de 0,50 g/kg. Chez l'homme, il est responsable de symptômes vésicants et de dermites chroniques. Toutefois, ce genre d'accident est rarissime dans notre pays, le D N C B étant le moins utilisé des dérivés chloronitrés du Benzène (9).

Le tableau n° 13 des maladies professionnelles prévoit la prise en charge des maladies engendrées par les dérivés nitrés et chloronitrés des carbures benzéniques. Mais les plus toxiques de ces dérivés sont le Nitrozenzène et surtout le Dinitrobenzène. Ces deux composés sont d'ailleurs bien plus largement utilisés que le D N C B. Le Nitrobenzène ou essence de Mirbane est utilisé dans la fabrication de l'aniline, de produits d'entretien, de parfums de savons et dans la fabrication de peintures (pour remplacer l'essence de térébenthine). Il est responsable d'intoxications aiguës (cyanose ardoisée) et chroniques. Le Dinitrobenzène, plus toxique encore, est employé dans l'industrie des colorants et la fabrication d'explosifs. Il a une action méthémoglobinisante et hémolysante (10).

Il est intéressant de noter que, malgré l'étroite parenté chimique avec les deux corps précédents, le D N C B ne possède pas de toxicité sanguine ou pulmonaire et n'a qu'une toxicité cutanée.

d) *Spécificité de l'allergie :*

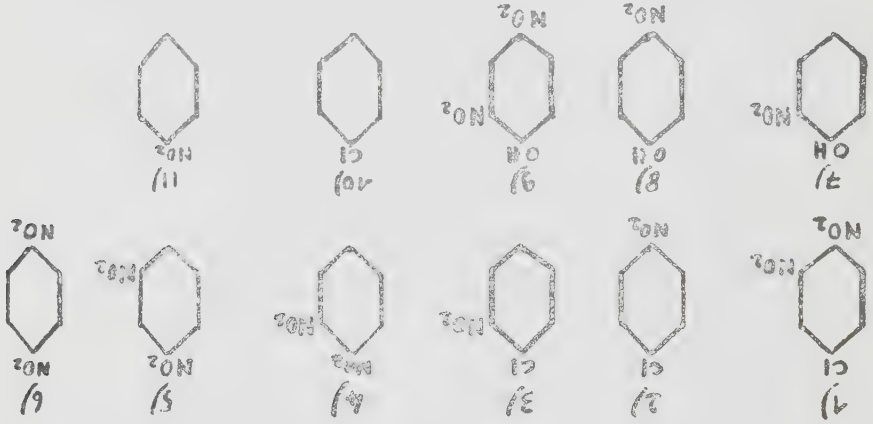
La possibilité d'allergies croisées entre le D N C B et les autres dérivés nitrés et chloronitrés du Benzène n'est pas à négliger, puisque certains de ces dérivés sont susceptibles d'être couramment rencontrés. Cette question a été étudiée par HAXTHAUSEN (28), qui, sur un lot de 6 patients présentant une H S R au D N C B particulièrement nette a pratiqué le test révélateur avec des solutions alcooliques à 1 % des composés suivants, dont nous donnons plus loin la structure chimique :

1) 3-4 dinitrochlorobenzène,
2) Paranitrochlorobenzène,
3) Orthonitrochlorobenzène,
4) Orthodinitrobenzène,
5) Métadinitrobenzène,
6) Paradinitrobenzène,
7) Orthonitrophénol,
8) Paranitrophénol,
9) 2-4 dinitrophénol,
10) Monochlorobenzène,
11) Nitrobenzène.

Un seul de ces composés — le 3-4 Dinitrobenzène — donna une réponse positive dans 4 des 6 cas examinés. Comparant ce résultat à ceux que LANDSTEINER et JACOBS (36) avaient obtenus chez le cobaye où la spécificité est beaucoup moins développée, HAXTHAUSEN faisait remarquer que ces auteurs utilisaient la voie intradermique et que, d'ailleurs, l'H.S.R. chez l'homme n'est pas superposable à celle du cobaye.

Il semble donc, d'après ce résultat, que chez l'homme l'allergie au D N C B soit très spécifique, mais la question mériterait d'être reprise sur un nombre plus important de sujets.

Notons cependant que cette spécificité n'est pas absolue puisque, pour un composé, le Dinitrofluorobenzène (D N F B), l'allergie croisée a pu être mise en évidence par Eisen (14). Nous aurons l'occasion de parler plus loin du D N F B qui a été utilisé, au même titre que le D N C B, par de nombreux auteurs.



2. - Travaux experimentaux.

a) *Dermites de contact expérimentales aux composés chimiques simples :*

Les travaux expérimentaux concernant le D N C B ont été longtemps du domaine de la dermatologie pure.

Beaucoup de nos connaissances actuelles sur la pathogénie des dermites de contact sont en effet fondées sur l'étude expérimentale des propriétés sensibilisatrices du D N C B au niveau de la peau.

La notion même de maladie cutanée par sensibilisation à un allergène remontre à 1875, avec les travaux de J. Jadasshon (32). Jusqu'à cette date, on expliquait les dermatoses par l'intervention de facteurs internes. Il devenait maintenant clair qu'il existait un lien étroit entre le phénomène d'hypersensibilité retardée décrit par Koch et certaines dermites de contact observées cliniquement.

A ce stade, et pendant de nombreuses années, les seuls allergènes utilisés pour ces travaux étaient des allergènes microbiens ou des protéines d'origine animale ou végétale. L'étape suivante fut l'utilisation de corps chimiques relativement simples, parmi lesquels le D N C B.

En 1928, Frei (17) obtenait chez le cobaye une dermite de contact par l'arsphénamine. Avec ce même composé, l'année suivante, Sulberger et Marion (52) étudiaient les possibilités de prévention et de désensibilisation.

Jadasshon W. (33), en 1930, avec la phénylhydrazine, et Mayer (41), en 1931, avec le paraphénylénédiamine, provoquaient des dermites de contact chez le cobaye.

Vers la même époque (1933), Landsteiner dégageait la notion d'haptène en montrant que de nombreux composés chimiques simples pouvaient se combiner avec des protéines étrangères et former ainsi des antigènes complets.

Appliquant cette notion d'haptène à l'étude du mécanisme de l'effet sensibilisateur du D N C B au niveau de la peau, Landsteiner et Jacobs (36), en 1935, montraient que ce composé était chimiquement actif et qu'il pouvait se combiner avec des bases, ce qui impliquait la possibilité de former des complexes antigéniques. D'autres composés chimiques simples, capables d'induire une sensibilisation cutanée, pouvaient, par diverses liaisons chimiques, s'unir à des protéines et devenir antigéniques.

Les travaux de Landsteiner et Jacobs montraient, d'autre part, que beaucoup de substances responsables de sensibilisation étaient aussi des irritants primaires pour la peau à une certaine concentration.

b) *Techniques de la sensibilisation du cobaye au D N C B :*

Utilisant le cobaye comme animal d'expérience, LANDSTEINER et JACOBS obtenaient la sensibilisation par des injections intradermiques quotidiennes de 0,0025 mg de D N C B dans 0,1 ml de solution saline, soit une dilution de 0,25 %.

Le test révélateur était fait par injections intradermiques ou applications épicutanées d'une solution à 1 % de l'allergène en huile d'olive, ou bien par une goutte sur la peau d'une solution alcoolique à 1% ou 0,1 %.

LANDSTEINER et CHASE (35) sensibilisaient le cobaye par des injections intradermiques répétées d'une solution de D N C B à 2 % en huile d'olive. Le test révélateur étant pratiqué par application épicutanée d'une solution à 1 %.

SCHREIBER et MULLER (51), en 1938, avaient recours pour la sensibilisation à une solution de D N C B à 5 % en acétone et pour le test révélateur à une solution à 0,25 %.

SCHNITZER (50), en 1941, montrait que la solution de D N C B à 0,5 % dans l'alcool provoquait une irritation primaire chez le cobaye, alors que ce n'était pas le cas avec une solution à 0,25 %. Cet auteur démontrait aussi que la réussite de la sensibilisation ne dépend pas de la quantité d'allergène appliqué, mais de la concentration d'allergène par unité de surface.

D'après GINSBERG, STEWART et BECKER (22), le D N C B à 1 % dans l'éther ou l'huile d'olive est un irritant primaire. GENTELE et HOMGREN (21), en 1951, utilisaient une solution alcoolique de D N C B à 1 % pour mettre en évidence la sensibilisation.

Par contre, BALDRIDGE et KLIGMAN (4), la même année, employaient pour le test révélateur une solution à 0,2 % ou plus, en acétone.

En 1952, Nilzen (46) établissait que la sensibilisation du cobaye pouvait être constamment obtenue par application de solution alcoolique de D N C B à 2 % ou de solution en acétone à 30 %. Pour le test révélateur, il utilisait une échelle de dilutions de D N C B dans l'alcool (0,25 %, 0,1 %, 0,05 % et 0,01 %) ou dans l'huile d'olive (1 %, 0,5 %, 0,25 %). Il obtenait ainsi une sensibilisation du cobaye dans plus de 90 % des cas.

Un peu plus tard, Nilzen devait mettre l'accent sur la difficulté de décider si la positivité d'un test est due seulement à une réponse d'hypersensibilité ou à une irritation non spécifique. L'histologie même ne permettant pas toujours de trancher.

En 1954, Zeligman (54) montrait que le D N C B à 5 % et à 1 % en acétone était irritant pour la peau du cobaye. Il aboutissait à des conclusions voisines de celles de Nilzen, sur la difficulté d'interprétation du est révélateur, et contestait un certain nombre de résultats de la littérature qui faisait appel au D N C B à 1 % en acétone pour tester la sensibilisation.

La thèse de Deweck (11), en 1956, sur l'eczéma expérimental du cobaye, montre qu'il existe un parallélisme entre l'effet toxique primaire et le pouvoir sensibilisant du D N C B en solution acétonique. La réaction toxique primaire ne peut que difficilement être distinguée macroscopiquement de la réaction eczémateuse. Les concentrations ne donnant pas de réactions toxiques primaires sont, d'après cet auteur :

— dans l'acétone : 0,1 %
— dans l'alcool : 0,1 %
— dans l'huile : 0,5 %.

Les solutions huileuses sont moins toxiques, mais aussi moins sensibilisantes que les solutions alcooliques ou acétoniques.

La question de la concentration optimale pour le test révélateur a été reprise par GRACIANSKI et L. ISRAEL (25), qui, de 1954 à 1958, ont étudié l'eczéma du cobaye provoqué par le D N C B.

A l'instar de nombreux auteurs, ils ont retenu la dilution de 0,135 % en acétone comme la limite supérieure, non susceptible d'entraîner des réactions toxiques primaires. Les résultats obtenus sur le plan histologiques par GRACIANSKI et L. ISRAEL sont intéressants : alors que le D N C B à 1 % en acétone provoquait dans 100 % des cas un infiltrat avec prédominance des polynucléaires, associé à un œdème du derme, la solution au 0,135 % provoquait dans 85 % des cas une réaction lympho-histiocytaire.

Ils distinguaient en fait 4 types de réponses cutanées :

1) Erythème simple, avec peu de cellules, sans œdème.
2) Infiltrat lymphohistiocytaire superficiel avec œdème du derme (c'est l'eczéma type).
3) Infiltrat lymphohistiocytaire du derme.
4) Infiltrat dermo ou épidermique avec lymphocytes, histiocytes et nombreux polynucléaires. Seul le type (1) était considéré comme négatif, le type (4) étant compatible avec une réaction d'H.S.R.

Discutant la méthode de sensibilisation, ces deux auteurs faisaient remarquer que la voie épicutanée était la meilleure, bien que LANDSTEINER, JACOBS, CHASE, ROSTENBERG, SCHNITZER aient obtenu des sensibilisations constantes par voie intradermique. En tous cas, la voie sous-cutanée n'entraîne pas de sensibilisation.

De l'ensemble des travaux envisagés, il ressort que les techniques utilisées pour la sensibilisation sont variées. Il en résulte parfois de grandes difficultés dans l'interprétation des résultats; en effet, les auteurs sont

en désaccord sur l'effet irritant primaire de telle ou telle concentration. Il faut reconnaître d'ailleurs qu'il est difficile de donner un chiffre précis dans ce domaine, étant donné en particulier les variations individuelles possibles de la susceptibilité vis-à-vis de l'effet irritant primaire.

Cependant, il est évident qu'il faut choisir pour le test révélateur une concentration inférieure à celle qui est susceptible d'entraîner une réaction toxique primaire.

On peut dire, en résumé, que la sensibilisation du cobaye par le D N C B a été, en général, effectuée par application sur la peau (plus rarement par injection intradermique) de solutions à concentrations primairement toxiques. Elle est obtenue soit par une seule application de solutions fortement irritantes (5 % et plus), soit par plusieurs applications à concentrations faiblement irritantes.

La mise en évidence de la sensibilisation a été faite habituellement par épidermo-test au moyen de solutions dont les dilutions sont comprises entre 0,01 % et 1 %, la dilution optimale se situant entre 0,1 % et 0,25 %.

Le tableau I permet de comparer les principales techniques utilisées depuis 1935 pour la sensibilisation du cobaye au D N C B.

c) *Rôle des adjuvants :*

A la suite des travaux de Freund (18), en 1956, certains auteurs ont étudié la sensibilisation par le D N C B associé à des adjuvants. Frey et Geleigk (19), en 1959, ont comparé, chez le rat et chez le lapin, les taux de sensibilisation par le D N C B seul et le D N C B associé au B C G. Alors que 28,6 % des rats et 10 % des lapins ont développé un eczéma de contact au D N C B seul, cet eczéma a été obtenu pour 89,3 % des rats et 32 % des lapins avec le B C G comme adjuvant.

TABLEAU I.

Différentes techniques de sensibilisation du cobaye au D N C B suivant les auteurs.

	SENSIBILISATION			REVELATION		
	Solvant	Dilution	Technique	Solvant	Dilution	Technique
LANDSTEINER et JACOBS (1935)	Solution saline	0,25 %	Inj. intra-dermiques quotidiennes	H. d'olive Alcool	1 % 1 % et 0,1 %	Inj. intra-derm. Test épicutané
LANDSTEINER et CHASE (1937)	Huile d'olive	2 %	Inj. intra-dermiques répétées	Huile d'olive	1 %	Test épicutané
SCHREIBER et MULLER (1938)	Acétone	5 %	1 ou plusieurs applications épicutanées	Acétone	0,25 %	Test épicutané
SCHNITZER (1941)	Alcool	2 %	Inj. intra-dermiques répétées ou applications épicutanées répétées	Alcool	0,25 % et 0,5 %	Test épicutané
NILZEN (1952)	Alcool	2 %	Applications épicutanées répétées	Alcool	0,1 %, 0,25 %, 0,5 %, 0,01 %	Test épicutané
	Acétone	30 %	1 application épicutanée	Huile d'olive	1 %, 0,5 %, 0,25 %	Test épicutané
ZELIGMAN (1954)	Acétone	5 %	Applications épicutanées de durées variables (15 mn à 21 j.)	Acétone	1 %	Test épicutané
	Pétrole	0,1 %	»	Pétrole	0,1 %	Test épicutané
GRACIANSKY et ISRAEL (1958)	Acétone	0,135 %	20 applications épicutanées	Acétone	0,135 %	Test épicutané

d) *Voie de pénétration du D N C B :*

Des travaux chez le cobaye concernant la voie de pénétration du D N C B appliqué directement sur la peau ont montré qu'elle se fait surtout au niveau des formations pilocébacées, la peau proprement dite, plus kératinisée, constituant une barrière efficace vis-à-vis des agents extérieurs (53).

e) *Etudes sur la tolérance immunitaire :*

Enfin, le D N C B a permis d'étudier la tolérance immunitaire chez le cobaye.

Nous ne ferons que rappeler les principaux résultats obtenus dans ce domaine. Chase (7), en 1946, avait montré que l'administration répétée de D N C B au cobaye par voie buccale empêchait la sensibilisation ultérieure par application cutanée de cet allergène. De Weck (12), un peu plus tard, obtenait la même tolérance par des injections intraveineuses de fortes doses de D N C B. En 1967, Odaka et Tazuko (47) obtenaient un résultat semblable par des injections intra-péritonéales.

Actuellement, les substances chimiques simples douées de propriétés haptémiques sont largement utilisées comme tolérogènes en liaison avec de grosses molécules (albumine, polypeptiques synthétiques).

f) *Autres haptènes utilisés pour induire une H.S.R. :*

D'autres dérivés, doués de propriétés hapténiques, ont été couramment utilisés, au même titre que le D N C B, pour provoquer des eczémas chez l'animal ou étudier l'H.S.R. chez l'homme.

1.) Le 1-2-4-6 chlorotrinitrobenzène (chlorure de picryle), utilisé surtout par Lansteiner et Chase (36), qui se montre plus actif chimiquement in vitro, vis-à-vis des protéïnes, mais qui a un pouvoir sensibilisant et un effet irritant primaire moins important que le D N C B (11);

2.) Le Dinitrofluorobenzène (D N F B) utilisé par divers auteurs (8, 40) et dont les propriétés hapténiques sont comparables à celles du D N C B; d'ailleurs, il existe une allergie croisée (14);

3.) Le Paranitrosodiméthyl aniline (N D M A) utilisé notamment par Epstein (16) et qui, d'après Landsteiner (37), aurait un pouvoir désensibilisant moindre que celui du D N C B;

4.) La Triéthylène-imine benzoquinone (T E I B), médicament allemand, utilisé comme agent antitumoral et qui provoque des réactions d'H.S.R. chez les malades souffrant d'épithéliomas. Nous avons vu qu'il a été utilisé par E. Klein (30), ainsi que le D N C B, dans des essais d'immunothérapie des lésions malignes de la peau (voir rappel immunologique).

3. - Application chez l'homme.

Chez l'homme, les premiers résultats sont dus à Wedroff et Dolgoff (56) qui, entre 1933 et 1935, ont montré, par un grand nombre d'expériences, que la peau humaine normale peut être sensibilisée constamment par une seule application de D N C B à 30 % en acétone.

L'hypersensibilité apparaissait entre le 10e et le 20e jour, parfois plus tard. Ils utilisaient, pour la mettre en évidence, une goutte de solution alcoolique de D N C B à 1 %.

En 1939, Haxthausen (28), utilisant les mêmes dilutions, réussissait à sensibiliser 14 sujets sur 15. La plupart de ses patients étaient atteints de gonorrhée, aucun ne présentant de maladie de la peau.

Il appliquait, dans un premier temps, la solution à 30 % en acétone en induisant avec du coton une surface de 2 cm2 de peau de la région épigastrique, aussi uniformément que possible. La solution alcoolique à 1 % était appliquée au moyen d'une boucle de platine (délivrant la même quantité de solution dans chaque cas)

sur une surface de peau de 1 cm2 en diverses régions du corps. La réaction était lue 24 heures après. L'H.S.R. apparaissait entre le 9e et le 18e jour, le plus souvent au bout du 14e jour.

Grâce à cette technique, HAXTHAUSEN pouvait mettre en évidence l'extension de l'allergie à toute la peau; il obtenait cependant une allergie strictement locale dans quelques cas de badigeonnage d'une très petite surface cutanée. Il montrait d'autre part que l'irradiation ultraviolette intensive de la peau avant l'application de la solution sensibilisatrice n'empêche pas la sensibilisation; au contraire, l'application de neige carbonique dans les 8 jours qui suivent le badigeonnage par l'allergène réduit le taux de sensibilisation à environ 20 % des cas.

Un résultat intéressant obtenu par cet auteur, et que nous avons rapporté plus haut, concerne la spécificité de l'allergie au D N C B qui semble être très étroite.

Les travaux de SULZBERGER et BAER (1938-1939) et de EISEN (14) chez l'homme confirmèrent, par contre, ceux de LANDSTEINER chez l'animal en mettant en évidence la relation entre la structure chimique et les propriétés hapténiques du D N C B.

Cependant, à cette époque, le mécanisme de la réponse d'H.S.R. restait inexpliqué. Faute de trouver des anticorps circulants, on invoquait des anticorps locaux, hypothétiques. Pour HAXTHAUSEN, par exemple, il devait exister des anticorps fabriqués par les cellules de la peau sous l'influence du complexe antigénique. Rappelons à ce sujet que l'expérience de LANDSTEINER et CHASE (39), qui devait montrer le rôle essentiel du lymphocyte dans l'H.S.R., date de 1940.

Après 1950, les travaux de dermatologie utilisant le D N C B comme agent sensibilisant ont été nombreux. ROSTENBERG, HAEBERLIN, BALLERTERO, POLAK entre autres, se sont employés à provoquer chez l'homme des dermites de contact expérimentales avec cet haptène. L'alcool

ou l'acétone servaient de solvants dans la plupart des cas, plus rarement l'huile d'olive ou l'huile de maïs. On note des variations très importantes dans le choix des dilutions, aussi bien pour la solution sensibilisatrice, de 1 % à 30 %, que pour la solution révélatrice de 0,0001 % à 1 %. La technique la plus couramment employée pour l'application étant celle de la goutte, par soucis de délivrer toujours la même quantité d'allergène.

Après une première période, durant laquelle le D N C B a permis de mieux comprendre l'eczéma de contact, et qui a duré en gros jusqu'en 1960, est apparue l'étape des applications à l'étude de H.S.R. dans diverses affections.

Epstein, le premier, en 1958, avait étudié l'H.S.R sans la leucose lymphoïde par le D N C B. Cone (8), en 1964, étudiait de la même manière la dépression de l'immunité dans le myélome multiple. La même année, c'étaient les études d'Aisenberg (3) sur l'H.S.R. dans la maladie de Hodgkin, et, en 1967, celles de Sokal et Primikirios dans la même affection.

En ce qui concerne l'étude de la dépression de l'H.S.R. dans les néoplasies, citons les travaux de Good, Kelly et coll. (23), en 1962; Levin et coll. (40), en 1964; Gross (27), en 1965; Morton (6), en 1970.

Enfin, tout récemment, en 1971, Sharma et coll. (48 bis) étudiaient l'H.S.R. dans la sarcoïdose par le test au D N C B et le T T B.

Nous rappellerons plus loin les principaux résultats obtenus par ces divers auteurs dans l'application du D N C B à l'étude des altérations de l'H.S.R. en les confrontant à nos propres résultats.

Une remarque s'impose cependant. Comme nous l'avons vu, les techniques varient notablement suivant les auteurs, qu'il s'agisse du solvant utilisé, des dilu-

tions, des moyens d'application sur la peau. Les auteurs s'accordent seulement pour n'utiliser que la voie épicutanée chez l'homme. Aussi, l'absence de codification du test cutané au D N C B jusqu'à ce jour doit-elle entrer en ligne de compte dans la confrontation des résultats.

Un point important, en particulier, concerne le délai d'apparition de l'H.S.R. Pour HAXTHAUSEN, nous l'avons vu, celle-ci se manifesterait, dans la plupart des cas, vers le 14e jour, ou plus tard, le 18e jour. WEDROFF et DOLGOFF, quant à eux, ont pu observer cette apparition seulement au 20e jour.

De telles différences dans les techniques expliquent peut-être en partie les variations observées d'une statistique à l'autre.

DEUXIEME PARTIE

TRAVAUX PERSONNELS

I — PLATE-FORME D'ETUDE

Notre étude porte sur un nombre total de 122 patients, tous hospitalisés au Centre de Pneumologie de Purpan, dans le Service du Professeur MIGUERES, au cours des années 1970-1971.

Ils se répartissent en deux grands groupes :

◆ D'une part, les « témoins », au nombre de 65, atteints, en fait, d'affections diverses, réputées sans incidence sur l'H.S.R. L'état général des sujets de ce groupe était considéré comme satisfaisant, malgré la maladie, et le traitement qu'ils recevaient n'était pas susceptible d'altérer l'état immunitaire.

Il s'agissait de 55 hommes et de 10 femmes, dont les âges extrêmes étaient 18 et 78 ans; l'âge moyen étant de 52 ans (39 avaient plus de 50 ans, 10 avaient plus de 70 ans).

Pour l'éventail étiologique, on pouvait le résumer ainsi :

— 23 tuberculoses, dont 22 purement pulmonaires,

— 20 bronchopathies chroniques,

— 10 affections pleurales aiguës (non néoplasiques),

— 10 pneumopathies aiguës ou chroniques,

— 2 hémoptysies cryptogénétiques.

◆ D'autre part, les « malades », au nombre de 57, atteints d'affections réputées susceptibles d'entraîner ou de s'accompagner d'un fléchissement de l'H.S.R. Dans ce groupe, on comptait 42 hommes et 15 femmes, dont les âges extrêmes étaient 18 et 84 ans, la moyenne étant de 58 ans (43 avaient plus de 50 ans, 10 avaient plus de 70 ans).

Dans ce groupe, figuraient les affections suivantes :

— 31 cancers bronchiques primitifs,

— 14 cancers secondaires pleuro-pulmonaires,

— 4 maladies de Hodgkin à détermination médiastino-pulmonaire,

— 4 sarcoïdoses,

— 2 leucoses lymphoïdes chroniques,

— 2 hypogammaglobulinémies.

Certains de ces malades ont eu parfois plusieurs tests au D N C B en cours d'évolution.

On voit que ces deux groupes sont comparables, aussi bien pour leur nombre que pour leur moyenne d'âge. Dans le groupe des malades, à côté des affections malignes proprement dites, nous avons des affections qui représentent des cas assez particuliers :

— la sarcoïdose, maladie considérée comme bénigne, mais dont l'évolution est, en réalité, imprévisible et qui, en tout cas, s'accompagne d'une altération bien connue de l'H.S.R. (anergie tuberculinique classique).

— l'hypogammaglobulinémie qui, théoriquement, n'a pas d'incidence sur l'H.S.R., mais qui correspond souvent à un déficit immunitaire complexe, associant une altération cellulaire et humorale (45). Nos deux malades étaient d'autre part porteurs de dilatations bronchiques.

II. — PROTOCOLE

1. - Problemes de technique.

Nous avons insisté, dans notre rappel historique, sur les variations importantes dans le choix des dilutions suivant les auteurs, aussi bien pour la solution sensibilisatrice que pour la solution révélatrice.

Or, il est indispensable, si l'on veut que le test au D N C B soit maniable, facilement reproductible et efficace, de codifier sa technique et, en particulier, d'utiliser toujours les mêmes dilutions.

a) *Sensibilisation :*

A l'instar de la plupart des auteurs, nous utilisons le D N C B en solution acétonique. Dupuy et Preud'homme (13), dans leurs études préliminaires, avaient fait appel à l'huile de maïs comme solvant et ont pu constater que cette technique, pourtant préconisée par certains auteurs, était responsable de réactions intenses avec brûlures et escarres.

En ce qui concerne la dilution, nous avons été amenés à écarter la solution à 30 % utilisée par Dupuy et Preud'homme et par les premiers auteurs (56, 28). Lors des tous premiers tests, en effet, nous obtenions avec la solution à 30 % des réactions nécrotiques trop importante et parfois gênantes pour le malade. Aussi, avons-nous retenu finalement la solution à 20 % qui s'est révélée aussi efficace sans avoir cet inconvénient.

b) *Solution révélatrice et lecture du test :*

Le problème est ici de trouver une dilution qui, tout en étant efficace, c'est-à-dire capable de mettre en évidence l'H.S.R., soit inférieure au seuil de toxicité primaire. Or, si cette question a été bien étudiée chez l'animal, il n'en est pas de même chez l'homme.

Nous avons, quant à nous, essayé trois dilutions : 1/500°, 1/300°, 1/150° :

— la dilution au 1/500° fut à l'origine de résultats faussement négatifs;

— la dilution au 1/150°, qui est celle qu'utilisaient DUPUY et PREUD'HOMME, fut responsable de réactions difficiles à interpréter, n'étant pas purement allergique, mais associant généralement des lésions d'irritation primaires, avec prédominance des polynucléaires, comme devait le montrer la biopsie cutanée.

— avec la dilution au 1/300°, les résultats ont été très satisfaisants, aussi bien cliniquement qu'à la biopsie cutanée. Cette dilution n'entraîne jamais de brûlures, mais l'interprétation macroscopique n'est pas toujours aisée, car la réaction d'H.S.R., qui consiste habituellement dans une papule sur fond érythémateux, peut aussi s'accompagner de vésicules ou de phlyctères.

En fait, nous nous trouvons ici devant le problème de la lecture d'une réaction d'H.S.R.

En toute rigueur, seul l'aspect histologique avec prédominance d'un infiltrat lympho-histiocytaire permet d'affirmer que la papule perçue au toucher 24 heures après l'application de l'antigène est bien une réaction d'H.S.R. C'est pourquoi, comme nous le verrons, nous avons été amenés à pratiquer dans quelques cas la biopsie cutanée pour interpréter la réaction.

2. - TECHNIQUE PERSONNELLE.

Nous pratiquons le test en deux temps :

a) *Test de sensibilisation :*

Nous utilisons une solution de 20 g de DNCB pour 100 ml d'acétone. Elle est appliquée grâce à une rondelle de papier filtre de 5 mm de diamètre, trempée dans la solution à l'aide d'une pince à dissection.

Le papier doit être débarrassé de tout excès de solution et seulement humide, ce qui est obtenu par évaporation en quelques secondes. La rondelle est alors déposée au niveau de la fosse sus-épineuse et immédiatement fixée par un sparadrap hypoallergique.

Dans le même temps, et suivant la même technique, on applique à la face antérieure de l'avant-bras une rondelle de papier filtre, imbibée cette fois de solution de D N C B au 1/300°, cette deuxième pastille a pour but de mettre en évidence une éventuelle sensibilisation antérieure.

On laisse en place les deux rondelles pendant 48 heures. La lecture est faite à la 72e heure. La solution à 20 % provoque chez tous les sujets une lésion brunâtre, nécrotique, de 10 à 15 mm de diamètre, à bords nets. Elle disparaîtra plus ou moins rapidement sans laisser de cicatrice.

Elle n'entraîne pratiquement aucune gêne pour le malade. Quant au test témoin au niveau de l'avant-bras, il ne donnerait de réaction que dans l'hypothèse exceptionnelle d'une sensibilisation antérieure au D N C B, éventualité que nous n'avons jamais rencontrée.

b) *Test révélateur :*

Nous le pratiquons 15 jours après la sensibilisation, toujours suivant la même technique, mais en utilisant cette fois la solution de D N C B au 1/300° en acétone, appliquée à la face antérieure d'un avant-bras. Sur l'avant-bras opposé, on applique un test témoin à l'acétone pur pour éliminer une sensibilisation à ce solvant.

c) *Lecture :*

La lecture est faite à la 72e heure, le test révélateur étant laissé en place 48 heures.

Nous n'avons jamais observé de réaction positive à l'acétone chez les 122 sujets étudiés.

Quant au test au D N C B, il est considéré comme positif lorsqu'il existe une zone d'érythème de diamètre égal ou supérieur à celui de la pastille (5 mm) avec une papule sous-jacente nettement perçue à la palpation et mesurant elle-même au moins 5 mm.

Dans la plupart des cas, on obtient une papule érythémateuse rouge ou brunâtre, arrondie, régulière, bien limitée, légèrement saillante, de 5 à 10 mm de diamètre (photo 1).

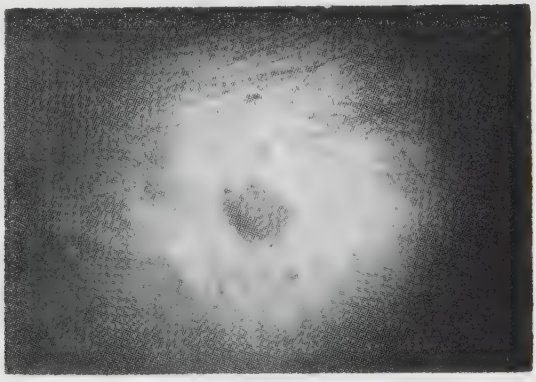


PHOTO N° 1.

Exemple de réaction positive au test révélateur (D N C B au 1/300e) au niveau de l'avant-bras, avec papule bien visible, sur une zone d'érythème, sans vésiculation.

Mais la présence de vésicules ou même d'une phlyctène n'excluent pas la présence d'une réaction d'H.S.R. On peut observer un aspect eczémateux typique, avec micro-vésicules sur un fond érythémateux, ou même une phlyctène unique de 5 mm de diamètre ou plus (photo 2). Dans ce cas, l'érythème est beaucoup plus étendu et peut dépasser 20 mm de diamètre.

La présence de la papule, traduisant l'infiltrat lympho-histiocytaire est indispensable cependant pour affirmer cliniquement la positivité du test. Or, dans le cas d'une vésiculisation importante de l'épiderme, la présence

d'une papule sous-jacente peut être difficile à affirmer. Le diagnostic différentiel avec une brûlure, lésion d'irritation primaire pure, se pose alors. Dans ce cas, seul l'examen histologique, à la recherche de l'infiltrat lympho-histiocytaire dermo-épidermique, permet de trancher.

De même, lorsque l'érythème étant présent, la papule est peu perceptible, l'examen histologique peut permettre de déceler une réaction d'H.S.R. faiblement positive.

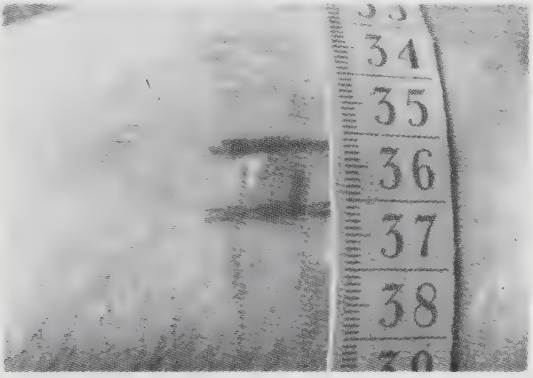


Photo N° 2.

Phlyctène unique de 7 mm de diamètre sur un fond érythémateux et inflitré correspondant à une réaction positive au test révélateur.

d) *Biopsie cutanée :*

Elle consiste à prélever, sous anesthésie locale, un fragment de peau comportant l'ensemble épiderme-derme et intéressant à la fois la zone de réaction et une région de peau normale voisine. Le fragment est adressé au laboratoire d'anatomie-pathologique avec la mention : recherche d'une réaction d'H.S.R.

Nous donnerons trois exemples illustrant l'intérêt de l'examen histologique dans le diagnostic d'H.S.R.

1°) Chez M. D..., après retrait du test révélateur, la peau présentait une zone érythémateuse brunâtre, de

diamètre correspondant à celui de la pastille, sans qu'on puisse palper de papule sous-jacente. La biopsie cutanée fut pratiquée et la réponse du laboratoire permettait d'affirmer qu'il n'y avait pas de réaction d'H.S.R., la peau étant normale à ce niveau. Il s'agissait donc d'une minime irritation par effet caustique primaire du D N C B.

2°) Au contraire, dans le cas de M. C..., alors que l'érythème était discret et la papule peu perceptible, la réaction s'avérait positive à l'examen histologique : la présence de micro-vésicules eczémateuses et d'infiltrats dermiques péri-vasculaires, à prédominance lymphocytaire, permettait d'interpéter la réaction comme faiblement positive.

3°) Enfin, chez M. R..., la réaction au test révélateur s'était traduite par la présence de vésicules évoquant l'aspect d'une brûlure, avec érythème important. La palpation apportait cependant la notion d'une zone sous-jacente infiltrée.

L'examen histologique montra qu'il s'agissait bien d'une réaction d'H.S.R., avec présence en profondeur de nombreux infiltrats à cellules rondes comprenant lymphocytes, histiocytes, sans polynucléaires ni plasmocytes (photo 3).

Nous n'avons évidemment pas pratiqué la biopsie cutanée dans tous les cas, l'interprétation macroscopique du test étant, dans l'immense majorité des cas, suffisante pour affirmer qu'il s'agit bien d'une réacion d'H.S.R. La biopsie systématique enlèverait d'ailleurs au test tout son intérêt pratique.

Cependant, si l'interprétation macroscopique du test est suffisante en pratique, notre expérience personnelle nous fait considérer qu'il est préférable de confier la lecture du test (ainsi d'ailleurs que sa réalisation) à un médecin entraîné, de préférence toujours le même.

d) *Détails pratiques :*

Les solutions sont maintenues à l'abri de la lumière, à une température de plus 4°. Elles sont renouvelées tous les mois ; nous réservons une pince à dissection pour chacune des 3 solutions (20 %, 1/300°, acétone).

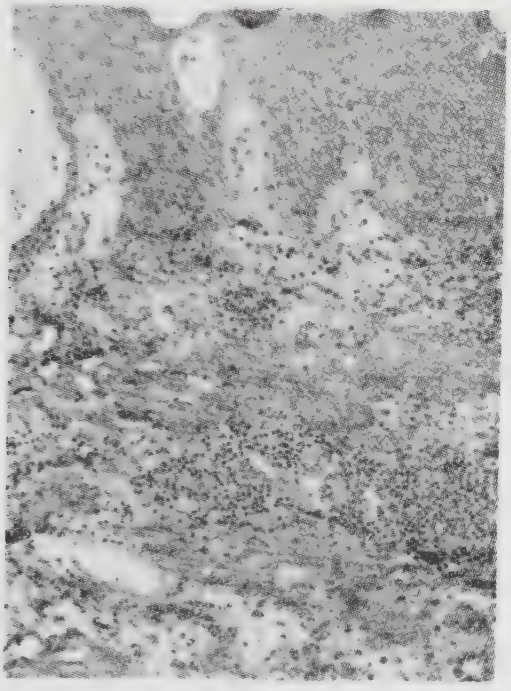


Photo N° 3.

Cette biopsie cutanée, pratiquée au niveau d'une réaction difficile à interpréter cliniquement (vésicules + papule) montre une réaction inflammatoire très importante avec vésiculation de l'épiderme et création en profondeur de nombreux infiltrants à cellules rondes comprenant lymphocytes, histiocytes, sans polynucléaire ni plasmocyte.

Cet aspect est donc parfaitement compatible avec une réaction d'hypersensibilité de type retardé

III. — RESULTATS

1. - Temoins.

Chez les 65 patients pris comme témoins, nous avons enregistré 56 tests positifs, soit un taux de 86,2 %.

Dans ce groupe, nous avons étudié l'influence de l'âge sur les réactions cutanées au D N C B; nous avons obtenu les résultats suivants :

— les 8 patients âgés de moins de 30 ans ont eu des tests positifs;

— chez les sujets de 30 à 70 ans, au nombre de 47, nous avons eu 41 tests positifs, soit 87 %;

— enfin, chez les sujets de plus de 70 ans, nous avons obtenu 7 tests positifs sur 10.

Ces résultats sont résumés dans le tableau II.

Tableau II

Influence de l'âge sur les réactions cutanées au D N C B chez 65 témoins.

Age	Taux de sensibilisation
< 30 ans	100 %
30 à 70 ans	87 %
> 70 ans	70 %

2. - Maladies immunodeficitaires.

Dans ce groupe comprenant 57 malades, nous avons obtenu 21 tests positifs, soit 37 %.

Le diagramme 1 met en évidence le net fléchissement de l'H.S.R. au D N C B dans ce groupe par rapport au groupe témoin :

Quant au détail des résultats suivant la maladie en cause, nous avons obtenu :

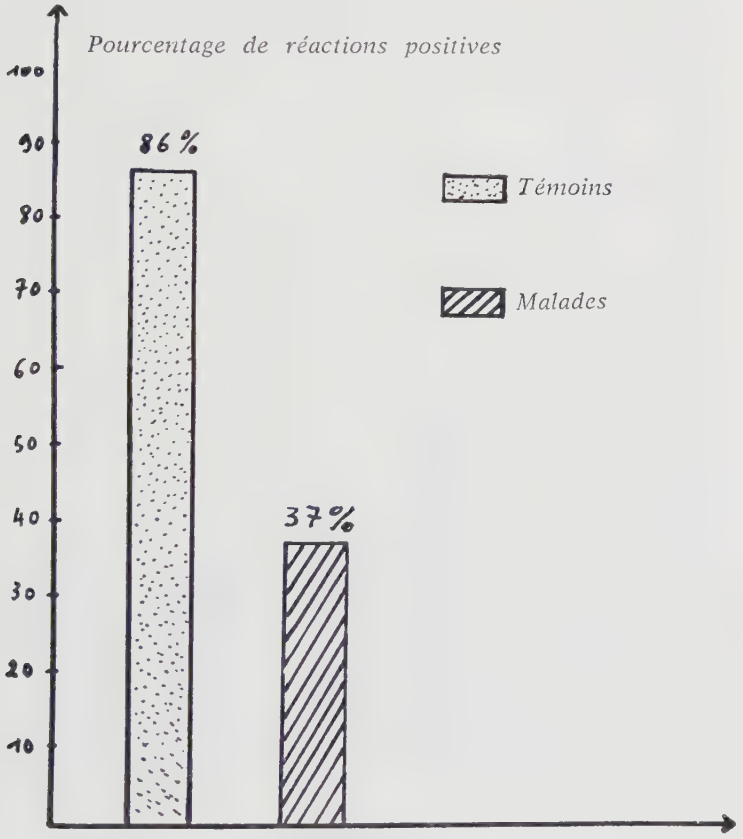


Diagramme 1.
Taux de D.N.C.B. + chez 65 témoins et 57 malades.

— 14 tests positifs sur 31 cancers bronchiques primitifs, soit 45,1 %;
— 5 tests positifs sur 14 cancers secondaires pleuro-pulmonaires;
— 1 test positif sur 4 maladies de Hodgkin;
— 1 test positif sur 4 B.B.S.;
— pas de test positif sur 2 leucoses lymphoïdes chroniques;
— pas de test positif sur 2 hypogammaglobulinémies.

Ces résultats sont résumés dans le diagramme 2.

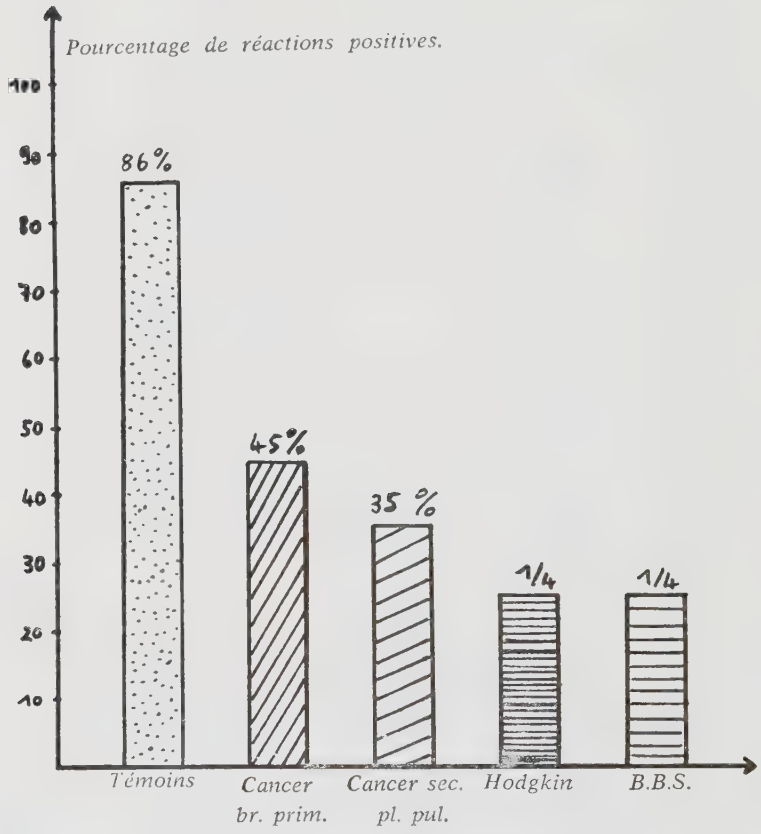


Diagramme 2.
Taux de D N C B positifs selon les étiologies.

3. - Correlation avec d'autres moyens d'exploration de l'H.S.R.

1.) *Tests tuberculiniques :*

L'allergie tuberculinique a été étudiée chez les 65 témoins et les 57 malades. Nous avons tenu compte, pour juger de la réactivité tuberculinique, non seulement de la cuti-réaction mais, lorsque celle-ci s'avérait

négative, des intradermo-réactions de Mantoux à 10 et 50 unités.

Ont été considérées comme positives :

— les cuti-réactions présentant, après 48 heures ou 72 heures, une papule indurée égale ou supérieure à 3 mm de diamètre;
— les intradermo-réactions à 10 unités entraînant une papule d'au moins 6 mm de diamètre;
— les intradermo-réactions à 50 unités entraînant une papule d'au moins 8 mm de diamètre.

Autrement dit, nous considérons comme tests positifs à la tuberculine, même les seules réactions positives à 50 U. On pourrait nous objecter que le test au D N C B, qui est un test épicutané, ne saurait être comparé aux tests de Mantoux, qui sont des intradermo-réactions.

En réalité, nous ne cherchons pas ici à comparer des tests épicutanés, mais deux moyens différents d'exploration de l'H.S.R. En pratique, l'étude de l'allergie tuberculinique fait appel à une véritable batterie de tests allant de la cuti-réaction aux tests de Mantoux. C'est cet ensemble indissociable que nous étudions ici, sous le terme de tests tuberculiniques (T.T.), et que nous comparons du D N C B.

A. — *Résultats :*

TABLEAU III.

Résultats des tests tuberculiniques.

TESTS TUBERCULINIQUES	TEMOINS	MALADES
Réponses positives	44	33
Réponses négatives	21	24
TOTAL	65	57

Rapprochons ces résultats de ceux du test au D N C B :

— dans le groupe des témoins, nous avons obtenu 44 T.T. positifs, soit 67 %, contre 86 % pour le D N C B.

— dans le groupe des malades, nous avons obtenu 33 T.T. positifs sur 57 (57 %) contre 37 % pour le D N C B.

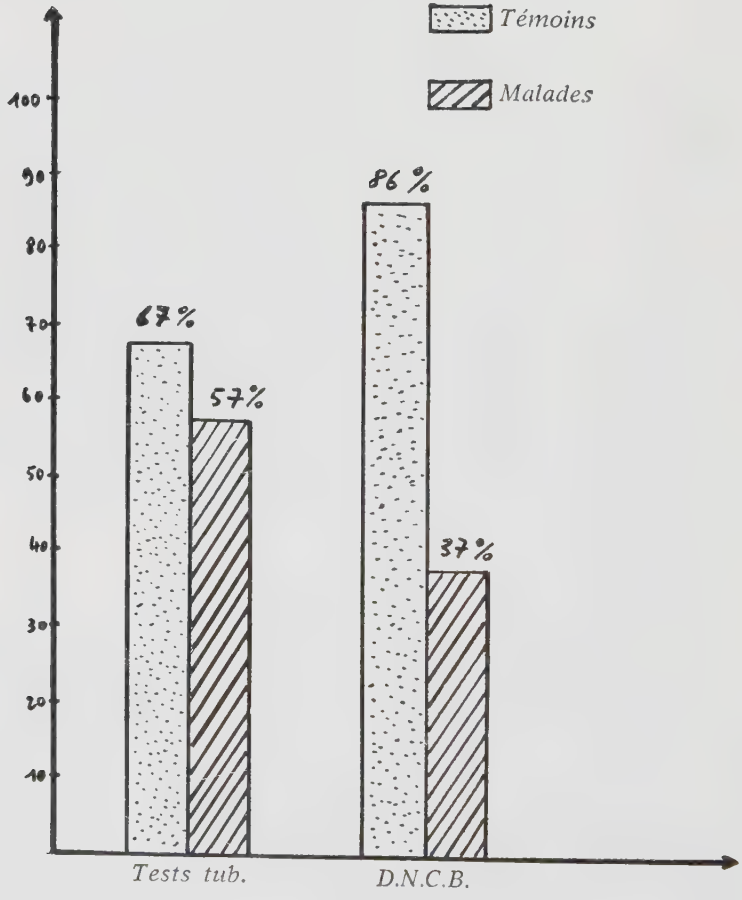


Diagramme 3.

Comparaison tests tuberculiniques - D.N.C.B.

Le diagramme 3 permet de comparer les résultats obtenus par les deux méthodes, aussi bien chez les témoins que chez les malades.

Ainsi, avec les tests tuberculiniques, le taux de réponses positives est plus bas qu'avec le test au D N C B en ce qui concerne les témoins, mais plus élevé en ce qui concerne les malades.

Le diagramme 3 montre que l'écart témoins-malades est relativement peu marqué pour les T.T., en tout cas nettement moins que pour le D N C B.

Il semble donc que le test au D N C B ait une valeur plus grande pour explorer l'immunité cellulaire, et cela a été souligné par divers auteurs. Comment expliquer une telle différence entre les deux test ? Envisageons séparément les résultats dans chacun des deux groupes :

◆ Pour le groupe des témoins, on est frappé par le taux peu élevé de réponses positives au T.T. (67 %). Cependant, ce groupe comprend un nombre important de tuberculeux (23 sur 65) et notre batterie de tests va jusqu'à l'I D R à 50 U.

Ce résultat va dans le sens d'un fléchissement de l'index tuberculinique observé depuis quelques années en France. En effet, alors que l'enquête de Renaud (48), en 1926, menée à Paris et dans les grandes villes de France, montrait que 98 % des sujets avaient une cutiréaction à la tuberculine positive, Coury, en 1961, citait des chiffres allant de 78 à 91 %, et Abou (1) obtenait un taux de 75 % en 1968-1969.

Cet auteur fait remarquer d'ailleurs que l'index tuberculinique varie selon les lieux et les continents, et que, dans certains pays, comme les Etas-Unis, la populaion de sujets adultes ayant viré leur cuti-réaction est faible.

Ces faits illustrant les réserves que nous avions

faites sur le plan théorique, quant au choix de la tuberculine pour étudier la réaction d'H.S.R.

◆ Pour le groupe des malades, nous observons en revanche plus de cuti-réactions positives (57 %) que le D N C B positifs (37 %). Autrement dit, dans les maladies immuno-déficitaires déprime moins une H.S.R. ancienne moins déprimée que les capacités de sensibilisation à un antigène nouveau. Ce résultat va dans le même sens que ceux qu'ont obtenus De Weck et Frey (12), dont les travaux expérimentaux ont montré que l'inhibition d'une H.S.R. ancienne est moins constamment obtenue que la tolérance vis-à-vis d'un antigène nouveau.

B. — *Corrélations D N C B - T.T. :*

— Pour les témoins, les réponses respectives aux deux antigènes s'établissent ainsi :

Tableau IV.

Corrélation D N C B - T.T. chez les témoins.

	D N C B +	D N C B —
T.T. +	37	7
T.T. —	19	2

— 37 témoins ont eu à la fois un D N C B positif et un test à la tuberculine positif.

— 19 témoins ont eu un D N C B positif avec un test à la tuberculine négatif.

— 7 témoins ont eu un D N C B négatif avec un test à la tuberculine positif.

— enfin, 2 témoins seulement ont eu les deux tests négatifs.

— Chez les malades, la différence de réactivité vis-à-vis des deux sortes d'antigènes s'exprime ainsi :

TABLEAU V.

Corrélation D N C B - T.T. chez les malades.

	D N C B +	D N C B —
T.T. +	12	21
T.T. —	9	15

Dans le cas des malades, il n'y a donc que 12 corrélations positives pour 15 corrélations négatives; 21 malades ont eu un D N C B négatif avec un T.T. positif, 9 ont eu un D N C B positif avec un T.T. négatif .

Si l'on fait le détail des corrélations selon les étiologies on obtient le tableau VI

TABLEAU VI.

Corrélation D N C B - T.T. chez les malades selon les étiologies.

	D N C B + T.T. +	D N C B + T.T. —	D N C B — T.T. +	D N C B —
Cancer Br I	9	5	12	5
Cancer II Pl. Pulm.	3	2	5	4
Hodgkin	0	1	2	1
L.L.C.	0	0	1	1
B.B.S.	0	1	1	2
Hypogamma-Globulinémie	0	0	0	2
TOTAL	12	9	21	15

2. - Test de transformation blastique des lymphocytes (T.T.B.)

A.) Bref rappel historique.

A la suite de Hungerford et coll. qui, en 1959, ont montré que la phytohémaglutinine (P H A) extraite du haricot rouge, stimule de façon non spécifique la transformation in vitro des petits lymphocytes circulants en cellules blastiques, de nombreux auteurs ont étudié ce phénomène non seulement en présence de P H A, mais en présence d'activateurs spécifiques (antigènes) pour explorer, dans ce cas, l'H.S.R.

En France, la technique du test a été bien étudiée par Halpern B.-N. et coll., tandis que ses applications, au cours des tumeurs, ont fait l'objet de travaux d'Israel et coll., Saumon G. et coll., Migueres et coll. (43).

— Chez les sujets normaux, les taux moyens de transformation blastique des lymphocytes en présence de P H A pure sont les suivants :

- Saumon et coll. (1967) : 80,56 %.
- Israel et coll. (1968) : 77,3 %.
- Migueres et coll. (1970) : 87,6 %.

Nous avons retenu, comme limite inférieure normale, le taux de 70 %, puisque nos résultats ont été obtenus par la même technique que celle utilisée par Migueres et Coll., qui avait donné comme valeurs extrêmes 98 % et 70 %.

— Chez les cancéreux, la plupart des auteurs s'accordent à reconnaître qu'il existe une chute du T.T.B., mais l'unanimité n'est pas faite sur ce point :

- Saumon et coll. : 66 %
- Israel et coll. : 56,6 %
- Evan et coll. : 71 % (même taux pour les témoins)
- Migueres et coll. : 63,3 %.

Quant au mécanisme de cette chute du T.T.B., il reste discuté et pose le problème fondamental du rôle de l'H.S.R., c'est-à-dire du lymphocyte, au cours de la maladie cancéreuse, problème que nous avons évoqué dans notre rappel immunologique.

B.) *Technique.*

La technique utilisée est celle que décrit Abou dans sa thèse (1), et mise au point dans le Service du Professeur J. Ducos et du Docteur Colombies, du Centre de Transfusion Sanguine de Toulouse. Cette technique étudie le T.T.B. avec des solutions de P H A et de tuberculine à différentes dilutions.

En réalité, nous n'avons retenu ici que les résultats les plus significatifs, c'est-à-dire ceux du T.T.B. en présence de P H A pure, les autres dilutions donnant des résultats moins nets, comme le montre la thèse d'Abou. Bien que le test ainsi pratiqué ne puisse être considéré comme un test d'H.S.R., il nous a semblé intéressant d'essayer d'établir une corrélation entre la réponse cutanée au D N C B et l'aptitude du lymphocyte à réagir in vitro en présence d'une activation non spécifique.

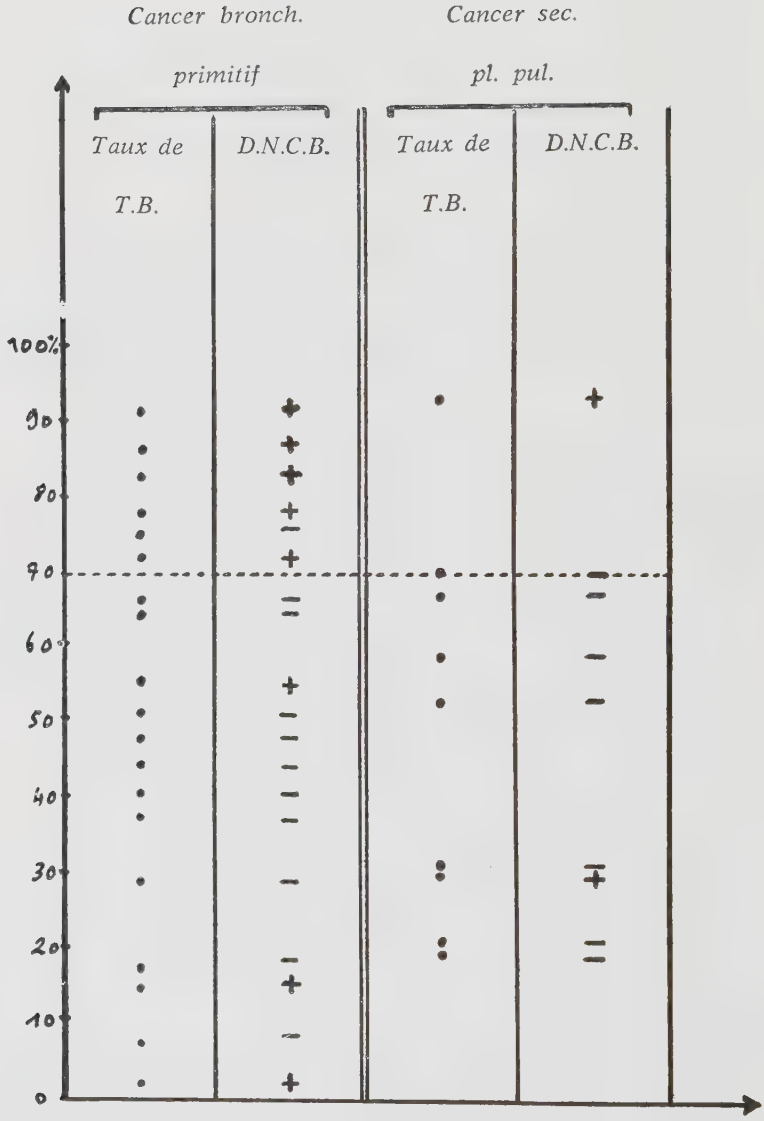
C.) *Résultats.*

Chez 28 malades, comprenant 18 cancers bronchiques primitifs et 9 cancers secondaires pleuro-pulmonaires, nous avons pu établir cette corrélation.

Dans le graphique 1, nous avons rapproché, pour chaque malade de ces 2 groupes, le taux de T.T.B. et le résultat du D N C B.

Dans le groupe des cancers bronchiques primitifs (19 malades), nous observons que 5 sur 8 malades ayant des D N C B positifs ont des réponses normales ou subnormales au T.T.B. (dépassant 70 %).

Sur les 8 cancers secondaires pleuro-pulmonaires, nous n'observons qu'une seule réponse normale au T.T.B. et le D N C B y est positif.



Graphique 1.

Corrélation D N C B - T T B (en présence de P H A pure).

IV. — CONFRONTATIONS BIBLIOGRAPHIQUES

1. - Resultats obtenus chez les temoins.

Les résultats obtenus par notre technique de sensibilisation au D N C B dans ce groupe s'inscrivent dans la ligne des constatations faites par de nombreux auteurs.

Cependant, la comparaison de ces résultats appelle, comme nous allons le voir, certaines réserves :

a) *Résultats des travaux initiaux.*

Les premiers travaux utilisant le D N C B et concernant la pathogénie des eczémas de contact avaient donné des résultats qui sont résumés dans le tableau VII, où sont précisés les solvants utilisés ainsi que les concentrations :

Tableau VII

Taux de sensibilisations au D N C B dans les groupes « témoins » obtenus par les premiers auteurs.

	Sensibilisation		Test revelateur		Taux de sensibilisation
	Solvant	Dilution	Solvant	Dilution	
Wedroff et Dolgoff (1935)	Acétone	30 %	Alcool	1 %	100 %
Haxthausen (1939)	Acétone	30 %	Alcool	1 %	14 sujets sur 15
Landsteiner et Chase (1939)	Acétone	10 %	Alcool	1 %	50 %

A l'époque de ces premiers travaux, les mécanismes de l'H.S.R. étaient encore mal connus, ainsi que l'influen-

ce de certains facteurs comme l'âge ou les affections malignes.

Aussi, ces résultats doivent-ils être envisagés en sachant que :

— le rôle de l'âge n'entre pas en ligne de compte,

— nous savons seulement qu'il s'agit de patients exempts de maladies de la peau.

Ces réserves étant faites, il est intéressant de noter que les chiffres obtenus par WEDROFF et DOLGOFF et par HAXTHAUSEN d'une part, et par LANDSTEINER et CHASE d'autre part, varient du simple au double. Un tel écart est sans doute imputable à la différence de concentration des solutions sensibilisatrices (30 % et 10 %), la durée d'application étant, dans les deux cas, de 48 heures, et les tests révélateurs étant d'égales dilutions.

b) *Travaux ultérieurs :*

Par la suite, l'influence de certaines affections, en particulier le cancer, sur l'H.S.R., a été reconnue, de même que le rôle de l'âge.

Le recrutement des témoins, par les divers auteurs, fait donc intervenir de nouveaux critères, surtout après 1960. Mais la disparité des techniques utilisées demeure.

C'est ainsi que le D N C B à 10 % en acétone a permis à EPSTEIN et KLIGMAN (15), en 1958, d'obtenir la sensibilisation de 90 % de témoins normaux, en laissant en place le test sensibilisateur pendant 10 à 14 jours, au prix de lésions nécrotiques importantes et, dans quelques cas, de sensations désagréables pour le malade. Le test révélateur faisait appel à une solution acétonique de D N C B à 0,1 %.

La même technique a été utilisée par GROSS (27), en 1964, chez des cancéreux et chez des témoins appartenant à différents groupes d'âge, comme nous le verrons plus loin. Pour GROSS, le taux de réponses positives chez 67 témoins de 15 à 70 ans est de 80 %.

En 1968, Waldorf (55), étudiant l'influence de l'âge sur l'H.S.R., a obtenu 72 % de sensibilisations chez 116 sujets normaux de 59 à 96 ans. Il utilisait une solution sensibilisatrice de D N C B à 2 % en acétone, laissée en place pendant 5 jours, et pour le test révélateur du D N C B à 1 ‰ en acétone.

La solution acétonique à 30 % est préconisée par Dupuy et Preud'homme (13). Elle a permis à ces auteurs d'obtenir 100 % de sensibilisations chez 27 témoins sans affection ou traitement susceptibles d'altérer les fonction immunitaires. Cette technique utilise, pour le test révélateur, une solution de D N C B à 1/150e.

En résumé, compte tenu des différences importantes dans les techniques utilisées, et en mettant de côté pour le moment le rôle de l'âge, les résultats obtenus chez les témoins sont les suivants :

— Epstein (1958) : .. .. .. 90 % de sensibilisation
— Gross (1964) : .. .. .. 80 % »
— Waldorf (1968) : .. .. .. 72 % »
— Dupuy et Preud'Homme : 100 % »

Nos propres résultats, dans le groupe des témoins, sont donc en concordance avec ceux de ces auteurs, puisque nous avons obtenu 56 réactions positives sur 65, soit un taux de 86,2 %.

c) *Travaux utilisant le D N F B :*

Good et Coll. (23), en 1962, ont étudié la dépression de l'H.S.R. au cours de la maladie de Hodgkin, grâce au D N F B à 10 % dans un mélange, à parties égales, d'acétone et d'huile de maïs. Pour le test révélateur, ils utilisaient une échelle de dilutions de 1 ‰ à 1/10 000e de D N F B dans les mêmes solvants. Ils ont pu ainsi sensibiliser 5 témoins sur 5.

Le transfert passif de l'H.S.R. au cours de la maladie de Hodgkin et chez les témoins a été aussi étudié

et a donné, par cette technique, 22 résultats positifs sur 23 pour les témoins.

En 1964, Cone et Uhr (8) ont étudié par le D N F B la dépression de l'H.S.R. au cours de la leucémie lymphoïde chronique, le myélome multiple, la maladie de Waldenstroem. Dans leur groupe de témoins, formé de convalescents de maladies infectieuses, ils ont pu sensibiliser 18 sujets sur 19. La solution sensibilisatrice étant à 1 % en acétone, tandis que le test révélateur était à 0,1 %.

Levin et Coll. (1964) ont pu, de leur côté, sensibilser 12 sur 16 de leurs témoins par le D N F B en solution à 0,5 % en acétone et huile de maïs, le test révélateur était à 0,1 % de D N F B dans la même solution.

d) *Influence de l'âge :*

Les résultats positifs chez les témoins oscillent, comme on le voit, entre des taux de 70 % à 100 %.

Sans doute, pour expliquer ces variations, peut-on invoquer les différences dans les techniques utilisées, mais plus important est peut-être le rôle de l'âge moyen des témoins, qu'il nous faut envisager maintenant.

La régression de l'H.S.R. aux antigènes chez les sujets âgés est un fait qui a été noté depuis longtemps, en particulier pour l'allergie tuberculinique. Mais, il n'existait pas d'études précises de ce phénomène jusqu'aux travaux de L. Gross, en 1964. Cet auteur a étudié l'H.S.R. au D N C B chez 5 groupes de sujets :

1.) des sujets jeunes, apparemment en bonne santé,

2.) des sujets âgés atteints d'affections chroniques non néoplasiques,

3.) des malades présentant une tuberculose en évolution,

4.) des cancéreux, à la phase terminale de leur maladie,

5.) des sujets ayant présenté un cancer apparemment guéri.

Nous avons décrit plus haut la technique utilisée par cet auteur, identique à celle d'Epstein et Kligman.

Seuls nous intéressent pour le moment les résultats obtenus dans les groupes (1) et (2) qui constituent, pour L. Gross, l'ensemble des témoins.

Pour ces deux groupes réunis, soit 67 individus, le taux de réactions positives était de 80 %, chiffre que nous avons déjà cité plus haut.

Pour le groupe (1), dont l'âge moyen était de 15 ans, le taux de positivité était de 96,7 %, tandis que pour le groupe (2), dont l'âge moyen était de 71 ans, ce taux s'établissait à 62 %.

Ces résultats ont été confirmés par les travaux de Waldorf et Coll. (55), dont nous avons rappelé plus haut la technique et les résultats globaux chez les témoins.

Le taux relativement bas de 72 % de sensibilisations obtenu par ces auteurs s'éclaire d'un jour nouveau lorsqu'on tient compte de l'âge des sujets explorés. En effet :

— sur les 17 sujets âgés de 59 à 69 ans, 16 ont pu être sensibilisés, soit 94 %.

— pour les 62 sujets âgés de 70 à 79 ans, la sensibilisation n'a été réussie que dans 43 cas, soit 69 %.

— enfin, chez les 35 sujets âgés de 80 à 89 ans, 24 ont pu être sensibilisés, soit 68 %.

Ces chiffres semblent indiquer que l'H.S.R. subit un fléchissement marqué vers l'âge de 70 ans; par contre, elle se maintient ensuite à un niveau à peu près constant même au-delà de 80 ans.

Nous avons également observé ce fait sur un nombre peu important de malades, il est vrai, puisque sur

10 sujets de plus de 70 ans, nous avons obtenu 7 réactions positives, soit 70 % (voir tableau II).

D'autre part, nos résultats concordent avec ceux de Gross et Waldorf en ce qui concerne le taux élevé de sensibilisations obtenues chez les sujets jeunes, comme le montre le tableau VIII.

Tableau VIII.

Taux de sensibilisation au D N C B obtenus par les auteurs à différentes tranches d'âge.

	Age	Nombre de sujets	Taux de sensibilisations
Cross (1964)	13 à 17	30	96,7 %
	58 à 95	37	62 %
Waldorf (1968)	59 à 69	17	94 %
	70 à 79	62	69 %
	80 à 89	35	68 %
Toulouse (1971)	Moins de 30	8	100 %
	30 à 70	47	87 %
	Plus de 70	10	70 %

2. - Resultats du test dans les affections susceptibles de depression immunitaire.

a) *Leucose lymphoïde chronique :*

Les premières applications du test au D N C B à l'étude des états immuno-déficitaires sont dues à Epstein (15, 16) qui, à partir de 1958, a exploré l'H.S.R. au cours de diverses affections.

Pour cet auteur, il existerait deux groupes de maladies s'accompagnant d'un déficit immunitaire :

— celles où ce déficit est modéré : sarcoïdose, arthrite rhumatoïde, maladie de Cröhn;

— celles où il est plus marqué : hypogammaglobulinémies, maladie de Hodgkin, hémopathies malignes.

En 1964, Cone L. et Uhr J.-W (8) ont étudié, par le test au D N F B, l'état de l'H.S.R. au cours de la leucose lymphoïde chronique (L.L.C.), le myélome multiple (M.M.), la maladie de Waldenström, par rapport à un groupe témoin :

— dans le groupe témoin, nous l'avons vu, ils ont obtenu 18 sensibilisations sur 19;

— dans la L.L.C., sur 9 tests pratiqués, 1 résultat positif;

— dans le myélome multiple, 5 résultats positifs sur 11;

— le seul cas de maladie de Waldenström étant négatif.

La L.L.C. s'accompagne donc, d'après ces auteurs, d'une dépression marquée de l'H.S.R. vis-à-vis du D N F B, ce qui confirme l'opinion d'Epstein. Cependant, chez 9 malades explorés, les tets aux antigènes naturels montrent une persistance remarquable de l'H.S.R. préexistante : 7 réponses positives ont été obtenues avec le candida albicans.

Cette étude montre aussi que le myélome multiple ne s'accompagne pas d'une dépression nette de l'H.S.R. explorée par le D N F B (5 réponses positives sur 11), ni de l'H.S.R. aux antigènes communs (9sur 11).

Rappelons que nos deux seuls cas de L.L.C. ont eu un test au D N C B négatif. Notons qu'ils présentaient aussi une forte hypogammaglobulinémie.

b) *Maladie de Hodgkin :*

L'anergie tuberculinique, observée classiquement au cours de cette affection, a donné lieu à des études utilisant les antigènes naturels, non seulement la tuberculine elle-même, mais des antigènes microbiens divers. L'insuffisance de cette méthode qui, nous l'avons vu, ne permet pas d'explorer les capacité de sensibilisation « actuel-

les » des malades, est apparue rapidement à de nombreux auteurs.

En 1962, AISENBERG (3) avait recours au D N C B pour étudier l'H.S.R. au cours de la maladie de Hodgkin. Il distinguait en fait deux sortes de malades :

— ceux qui présentaient une maladie de Hodgkin « active », c'est-à-dire en pleine évolution, avec les signes cliniques caractéristiques et l'altération de l'état général;

— ceux qui n'avaient aucune manifestation de la maladie, dans les mois qui précédaient le test (maladie « inactive »).

Les résultats obtenus par cet auteur sont les suivants :

— dans le cas de maladie de Hodgkin en évolution, l'anergie cutanée est constante. Aucun des 40 tests pratiqués chez les 25 malades n'a été positif.

— chez les malades présentant une maladie de Hodgkin « inactive » depuis deux ans ou plus, la réaction cutanée était normale. Ceux dont la maladie était « inactive » depuis moins de 2 ans étaient soit normaux, soit anergiques.

Pour AISENBERG, il existe un parallélisme évident entre l'activité du granulome hodgkinien et la dépression immunitaire, caractérisée par l'anergie cutanée. Mais la signification de cette association restait pour AISENBERG à expliquer.

Nous savons maintenant qu'il existe des maladies de Hodgkin avec forte dépression lymphocytaire et des formes où cette dépression est peu marquée. Il serait intéressant d'étudier, sur un nombre suffisant de malades, la relation entre la lymphopénie et le degré de dépression de l'H.S.R.

Le D N F B a permis à R. Good et Coll. (23) d'étudier également l'H.S.R. au cours de la maladie de Hodgkin dans 7 cas. Aucun des patients n'a pu être sensibilisé au D N F B, et, d'autre part, les réponses à la toxine diphtérique ont été elles aussi négatives. Cependant, le stade évolutif pour chaque malade n'est pas précisé, non plus que le retentissement général de la maladie.

Pour Good et Coll., l'anergie serait un phénomène précoce au cours de la maladie de Hodgkin. Elle se manifesterait, non seulement vis-à-vis d'antigènes rencontrés par le sujet dans son passé, mais également vis-à-vis d'antigènes nouveaux. D'autre part, le transfert passif de l'H.S.R. au D N F B, tenté dans 13 cas de maladie de Hodgkin par ces auteurs, n'a pu être obtenu, ce qui, d'après Good et Coll., indiquerait que l'H.S.R. consécutive au transfert de cellules est un processus qui nécessite la participation active de l'hôte.

Les résultats de Aisenberg et de Good semblent donc confirmer l'opinion d'Epstein qui place la maladie de Hodgkin parmi les affections où le déficit de l'H.S.R. est le plus marqué.

Bien que notre plate-forme d'étude ne comporte que 4 maladies de Hodgkin, nos résultats sont en concordance avec ceux de la littérature, puisque nous n'avons pu sensibiliser qu'un seul de ces quatre malades.

c) *Cancer :*

La dépression de l'H.S.R. au cours du cancer a été étudiée par Levin et Coll. (40) par le test au D N F B, en 1964. Sur 46 cancéreux, ils ont obtenu seulement 12 réactions franchement positives et 10 réponses faiblement positives, soit 20 sensibilisations (soit 43 %). Ils notent cependant que l'état général des malades intervient dans les résultats d'une manière nette. Ils utilisaient ,pour préciser le retentissement fonctionnel de la

maladie, des critères de KARNOFSKY qui permettent d'établir les cotations suivantes :

— de 70 à 100, les possibilités d'activité sont normales ou sub-normales, le travail est possible.

— les cotations de 40 à 70 sont attribuées aux malades inaptes au travail, mais non alités et pouvant se passer d'assistance.

— la cotation de 40 indique la nécessité de soins hospitaliers sans que le malade soit cependant confiné au lit.

— enfin, les malades grabataires, en phase terminale de la maladie, se voient attribuer la cotation 30.

Les résultats obtenus par LEVIN et Coll., en tenant compte de ces critères, sont les suivants :

— sur un nombre total de 46 cancéreux, le lot le plus important numériquement, soit 22 malades, correspond à la cotation 30. Le pourcentage de réactions positives au D N F B est ici de 32 %.

— 17 malades, ayant obtenu la cotation de 40, ont une réponse positive dans 47 % des cas.

— sur 5 cancéreux, notés de 50 à 70, 3 ont répondu positivement.

— enfin, les 2 cancéreux ayant la cotation 90 ont eu un D N F B positif.

L'intérêt de cette méthode, pour LEVIN et Coll., est de permettre de comparer l'H.S.R. chez les cancéreux et les non cancéreux pour des altérations égales de l'état général. C'est ainsi que le test au D N F B, pratiqué chez 13 malades non cancéreux mais ayant, selon les critères de KARNOFSKY, la note 40, a donné 11 réponses positives, soit 85 % (contre 47 % pour les cancéreux de même niveau d'altération fonctionnelle et générale).

D'après LEVIN et Coll., c'est donc bien la maladie cancéreuse qui s'accompagne d'une altération progressive de l'état immunitaire, l'état général lui-même n'intervenant pas dans le processus.

Les travaux de L. GROSS (27), avec le D N C B cette fois, et dont nous avons envisagé les résultats en ce qui concerne l'influence de l'âge sur l'H.S.R., mettent aussi en évidence le rôle de la maladie cancéreuse dans la dépression de ce type de réaction.

Cet auteur a pratiqué le test sur 14 cancéreux en phase terminale et dont l'âge moyen était de 75 ans. Il n'a obtenu que 2 réponses positives. Par contre, sur 6 cancéreux traités chirurgicalement et d'âge moyen inférieur à 70 ans, 4 d'entre eux ont répondu positivement.

L. GROSS note que le nombre trop limité de ces observations ne permet pas de tirer de conclusions valables, mais que ces résultats suggèrent que l'H.S.R. au cours de cancer est plus ou moins déprimée suivant l'âge du malade, le stade évolutif, le degré d'extension du processus néoplasique, la présence de la tumeur ou son exérèse chirurgicale.

Si nous rapprochons les résultats de LEVIN et Coll. et de L. GROSS, en ne tenant compte que des chiffres globaux obtenus dans leurs groupes de cancéreux, nous constatons une concordance assez remarquable :

— LEVIN et Coll. : 43 % de sensibilisation;

— GROSS : 40 % de sensibilisation.

Rappelons que nous avons, quant à nous, obtenu, en réunissant les cancers bronchiques primitifs et les métastases pleuro-pulmonaires, 19 réponses positives sur 45, soit un taux de 42 %.

Mais nos résultats semblent également confirmer que l'H.S.R. est d'autant plus déprimée que le processus

néoplasique est plus étendu, puisque nous avons obtenu :

— 14 réactions positives chez 31 cancers bronchiques primitifs sans métastase cliniquement décelable, soit 45,1 %.

— 5 réactions positives dans les 14 cas de cancers pleuro-pulmonaires secondaires, soit 35,7 %.

Pour D.-L. Morton (6), le test au D N C B pourrait permettre précisément d'évaluer les possibilités de défense immunologique des cancéreux et, dans une certaine mesure, d'avoir une notion pronostique, si l'on admet que le degré de dépression de l'H.S.R. est fonction de l'extension de la néoplasie. Cette opinion se fonde sur les résultats d'une étude de l'H.S.R. chez 110 cancéreux par D.-L. Morton, en 1970.

Utilisant le D N C B en acétone à 2 % pour la sensibilisation, et à 0,1 ‰ pour le test révélateur, il a obtenu 70 réponses positives sur 110, soit un taux de 63,5 %.

Parmi les cancéreux ayant pu être sensibilisés, 90 % étaient opérables et leur durée de vie excéda six mois. Sur les 40 cancéreux dont le D N C B avait été négatif, 97 % étaient inopérables ou récidivèrent dans les six mois qui suivirent l'intervention. D.-L. Morton estime que le test au D N C B pourrait être utile pour sélectionner les cancéreux susceptibles de bénéficier d'une immunothérapie du cancer.

d) *Sarcoïdose :*

Pour Epstein, la dépression de l'H.S.R., au cours de la sarcoïdose, est modérée. Au contraire, pour Sharma et Coll. (48 bis), elle serait particulièrement marquée : la sensibilisation au D N C B, tentée par ces auteurs chez 21 malades, n'a été possible que dans 6 cas, soit un taux de 29 % de réactions positives.

Sharma et Coll. ont constaté aussi un faible taux de T.T.B. pour 90 % de malades atteints de sarcoïdose,

alors que, sur un nombre égal de témoins, ils n'ont trouvé qu'un seul cas de taux faible. Ils ont pu établir ainsi une corrélation D N C B - T.T.B. au cours de la sarcoïdose : 15 malades, soit 71 %, avaient à la fois un D N C B négatif et un T.T.B. négatif; 2 malades, soit 10 %, avaient les deux tests positifs; 4 malades, soit 19 %, avaient un D N C B positif et un T.T.B. négatif. Aucun des 21 malades n'avait un D N C B négatif et un T.T.B. positif.

Rappelons que sur nos 4 cas de sarcoïdose, la sensibilisation a échoué 3 fois, ce qui semblerait aller dans le sens d'une dépression importante de l'H.S.R. au cours de cette affection.

CONCLUSIONS

Nous avons exploré, chez 57 sujets atteints d'affections s'accompagnant habituellement d'une dépression de l'immunité cellulaire, et chez 65 témoins, l'hypersensibilité de type retardé (H.S.R.) par le test épicutané au Dinitrochlorobenzène (D N C B).

L'emploi du D N C B comme test cutané d'H.S.R. est justifié par ses propriétés qui le rendent supérieur aux antigènes naturels classiquement utilisés, comme la tuberculine. Il permet, en effet, d'évaluer l'aptitude à se sensibiliser à un antigène nouveau (réponse primaire), ce qui est plus important, dans le bilan immunitaire, que la mise en évidence d'une sensibilisation ancienne parfois conservée (réponse anamnestique).

Notre technique se fonde sur l'emploi du produit en épidermo-test. Après tâtonnement, nous avons choisi, pour la sensibilisation, une solution de D N C B à 20 % dans l'acétone et, pour le test révélateur, une solution acétonique au 1/300^{e}.

Ainsi pratiqué, le test au D N C B s'avère particulièrement maniable, efficace et d'une totale innocuité. Les résultats obtenus chez les témoins choisis parmi des patients atteints d'affections respiratoires ne s'accompagnant pas habituellement d'une dépression immunitaire, démontrent son efficacité : nous avons pu, en effet, sensibiliser 86,2 % d'entre eux, le délai d'apparition de l'H.S.R. étant de 15 jours. La comparaison avec les tests tuberculiniques, pratiqués conjointement, fait apparaître la plus grande fidélité du test au D N C B pour explorer l'H.S.R.

Comme d'autres auteurs, nous avons pu remarquer l'influence de l'âge sur l'H.S.R. explorée au moyen de ce test : les réponses sont constamment positives chez les sujets de moins de 30 ans, alors qu'après 70 ans la sensibilisation n'est obtenue que dans deux tiers des cas.

Dans les cancers de la sphère thoracique (45 cas) l'existence d'une dépression de l'immunité cellulaire, étudiée par le test au D N C B, apparaît à l'évidence : 42 % seulement de réactions positives sont notées dans ce groupe. Cette dépression est d'ailleurs plus marquée dans les cancers secondaires pleuro-pulmonaires (35 % de réponses positives) que dans le cancer bronchique primitif (45 %).

Les résultats enregistrés dans 4 cas de la maladie de Hodgkin et dans 4 cas de sarcoïdose, bien qu'ils ne concernent qu'un nombre très limité de patients, plaident dans le sens d'une dépression marquée de l'H.S.R. au cours de ces affections.

Chez 28 malades, soit 18 cancers bronchiques primitifs et 9 cancers secondaires pleuro-pulmonaires, nous avons comparé le résultat du test au D N C B avec celui du T.T.B. en présence de phytohémaglutinine pure. Nos résultats montrent une corrélation entre la réponse au D N C B, c'est-à-dire l'état de l'H.S.R., et l'aptitude du lymphocyte à réagir in vitro vis-à-vis d'un activateur non spécifique.

La confrontation de nos résultats avec ceux relevés dans la littérature fait apparaître une concordance remarquable, aussi bien pour les témoins que pour les malades. Alors que les taux de réactions positives chez les témoins sont compris entre 70 % et 100 %, selon les auteurs, au cours des affections qui s'accompagnent habituellement d'une dépression de l'H.S.R., des taux inférieurs à 50 % sont rapportés.

La dépression de l'H.S.R. apparaît plus ou moins marquée suivant le type d'affection, bien qu'il soit sans doute difficile actuellement d'établir, comme le fait EPSTEIN, une classification des maladies selon ce critère.

En tout cas, l'exploration de l'H.S.R. par les tests cutanés seuls, ou mieux encore, par des techniques in vitro, présente un grand intérêt qui semble à la fois d'ordre pathogénique, diagnostique et pronostique. Il est cependant particulièrement intéressant, pour le clinicien, de disposer d'un moyen rapide et efficace pour tester l'H.S.R., manifestation de l'immunité cellulaire.

Aussi, pensons-nous que ce test, par sa fidélité et sa simplicité, est appelé à occuper une large place dans le bilan immunitaire de routine, concurremment à d'autres méthodes plus élaborées, sous réserve que sa technique soit parfaitement codifiée et que les utilisateurs soient suffisamment familiarisés avec son emploi.

Vu et permis d'imprimer

Toulouse, le 20 Décembre 1971.

Le Président de l'Université Paul-Sabatier :

L. LARENG.

BIBLIOGRAPHIE

1. Abou (P.). — Contribution à l'étude de l'état immunitaire au cours du cancer bronchique primitif. A propos de 83 observations. *Thèse,* Toulouse, 1970.

2. Adams (R.-M.) et Coll. — 1-chloro-2-4 Dinitrobenzène pour la destruction des algues. Rapport de quatre cas de dermatite de contact. *Arch. of Dermatalogy,* fév. 1971, *103,* 2, pp. 191-193.

3. Aisenberg (A.-C.). — Studies on delayed hypersensitivity in Hodgkin disease. *J. of Clinical Invest.,* 1962, *41,* 11.

4. Baldridge (G.-M.) and Kligman (A.-M.). — The effect of cortisone on experimentally induced contact dermatitis. *J .Invest. Dermat.,* 1951, 17, pp. 257-269.

5. Burnet (F.-M.). — The concept of immunological surveillance. *Progress in experimental tumor research,* 1970, 13, pp. 1-28.

6. Cancer. Un test pronostique. *Concours Méd.,* 1970, *92,* a, pp. 481-482.

7. Chase (M.-W.). — Inhibition of experimental drug allergy by prior feeding with sensitizing agent. *Proc. Soc. Exper. Biol. Med.,* 1946, 60, p. 257.

8. Cone (L.) and Uhr (J.-W.). — Immunological deficiency disorders associated with chronic lymphocytic leukemia and multiple myeloma. *J. Clin. Invest.,* 1964, 43, pp. 22-41.

9. Derobert (L.). — Intoxications et maladies professionnelles. *In Coll. Méd. Chir. à réun. ann.,* p. 999 à 1004 et p. 1007.

10. Desoille (H.). — Dinitrobenzènes. *Enc. Méd. Chir.,* Intoxications, 1962, fasc. 16049, A 10, 2.

11. De Weck (A.). — De l'eczéma expérimental. La sensibilisation du cobaye au Dinitrochlorobenzène et au chlorure de picryle. *Thèse Méd.,* Genève, 1956.

12. De Weck (A.) and Frey (J.-R.). — Immunotolerance to simple chemicals. 1 volume, *Karger éd.*, Bâle - New York, 1966.

13. Dupuy (J.-M.) et Preud'homme (J.-L.). — Exploration de l'hypersensibilité retardée par le 2-4 Dinitrochlorobenzène. *Presse Méd.*, 20 janvier 1968, *76*, 3, pp. 123-124.

14. Eisen (H.-N.-L.), Orris and Belman (S.). — Elicitation of delayed allergy skin reactions with hapten : the dependance of elicitation on hapten combination with protein. *J. Exp. Med.*, 1952, 95, p. 473.

15. Epstein (W.-L.). — Induction of allergic contact dermatitis in patients with lymphoma leukemia complex. *J. Invest. Dermat.*, 1958, 30, p. 89.

16. Epstein (W.-L.). — Delayed hypersensitivity responses in immunologic deficiency states. *XIII*[e] *Congrès International de Dermatologie*, Munich, 1967, pp. 1148-1149.

17. Frei (W.). — Uber willkürliche sensibilisierung gegen chemis ch definierte substanzen. II Untersuchung mit neosalvarsan am tier. *Klin. Wchnschr.*, 1928, 7, pp. 1026-1031.

18. Freund (J.). — The mode of action of immunologic adjuvants. *Fortschr. Tukerk. Forsch*, 1956, 7, pp. 130-139.

19. Frey (J.-R.) und Geleick (H.). — Experimentelles Kontaktekzem durch Dinitrochlorobenzol an ratten und kanichen. *Dermatologica*, 1959, 111, pp. 294-300.

20. Gell (P.-G.-H.) and Coombs (R.-R.A.). — Clinical aspects of immunology. 1 vol., Oxford, 1968, *Blackwell Scientif. pub.*

21. Gentele (A.) and Holmgren (H.). — Investigation of possible inhibitor action of heparin on certain experimental allergic dermatoses. *Acta dermat.-venereol.*, 1951, 31, pp. 322-330.

22. Ginsberg (J.-E.), Stewart (C.D.) and Becker (S.-W.). — Cutaneous sensitization studies. II. Gross and microscopic changes in ragweed and 2-4 Dinitrochlorobenzene sensitization of guinea pigs and in poison ivy sensitization of human beings. *J. Invest. Dermat.*, 1939, 2, pp. 81-92.

23. Good (R.-A.), Kelly (W.-D.), Rodstein (J.) and Varco (R.-L.). — Immunological deficiency diseases. *Prog. Allergy*, 1962, 6, p. 283.

24. Goust (J.-M.), Moulias (R.), Berthaux (P.). — Les phénomènes d'immunité à médiation cellulaire : mise en évidence in vitro chez l'homme. *Rev. Prat.*, 1971, *21*, 22, p. 3291.

25. Graciansky (P. de), Israel (L.) et Cohen-Solal (J.). — L'eczéma du cobaye au Dinitrochlorobenzène. Etude de l'influence de certains médicaments neurotropes. *Sem. Hôp. Paris*, 18 Mai 1960, 23/5, pp. 1451-1464.

26. Grimmer (H.). — L'histologie de la réaction d'épreuve épicutanée dans le cas de sensibilisation extra-cutanée par le 2-4 Dinitrochlorobenzène. *Arch. Klin. Exper. Derm.*, 1961, *214*, 2, pp. 105-113.

27. Gross (L.). — Immunological defect in aged population and its relationship to cancer. *Cancer*, 1965, 18, p. 201.

28. Haxthausen (H.). — Some problems concerning the pathogenesis of allergic eczemas, elucidated by experiments on sensitization with dinitro-chlorobenzène. *Acta dermat.-venereol.*, 1939, 20, pp. 257-272.

29. Hugues (L.-E.), Mackay (W.-D.). — Supression of tuberculine response in malignant diseases. *Brit. Med. J.*, 1965, 2, p. 1346.

30. Immunothérapie des tumeurs malignes. *Tribune Médicale*, 28 Mars 1970.

31. Israel (L.), Mawas (C.), Bouvrain (A.), Mannoni (P.) et Sors (Ch.). — Etude de l'hypersensibilité retardée à la tuberculine chez 130 cancéreux adultes. Effet au B C G. *Path. Biol.*, 1967, *15*, 11-12/13, 14, pp. 597-601.

32. Jadassohn (J.). — Zur kenntnis der medicamentoesen dermatosen. Verhand. d.V. *Deutsh. Dermat. Geselsch. Graz*, 1895.

33. Jadassohn (W.). — Sensibilisierung der haut des meersdweinchens auf phenylhydrazin. *Klin. Wchnschr.*, 1930, 9, p. 551.

34. Jousset (A.). — Valeur diagnostique des cuti-réactions à la tuberculine chez l'adulte. *Bull. Mem. Soc. Méd. Hôp. Paris*, 1926, 50, p. 837.

35. Landsteiner (K.) and Chase (M.-W.). — Studies on the sensitization of animals with simple chemical compounds. IV. Anaphylaxis induced by picryl chloride and 2-4 Dinitrochlorobenzene. *J. Exper. Med.*, 1937, 66, pp. 337-351.

36. Landsteiner (K.) and Jacobs (J.). — Studies on the sensitization of animals with simple cehmical compounds. *J. Exper. Med.*, 1935, 61, pp. 643-656.

37. Landsteiner (K.), Rostenberg (A.), Sulzberger (M.-S.). — Indi vidual differences in susceptibility to eczematous sensitization with simple chemical substances. *J. Invest. Dermatol.*, 1939, 2, pp. 25-29.

38. Landsteiner (K.) and Chase (M.-W.). — Studies on the sensitization of animal with chemical compounds. VII. Skin sensitization by intraperitoneal injections. *J. Exper. Med.*, 1940, 71, p. 237.

39. Landsteiner (K.) and Chase (M.-W.). — Experiments on transfer of cutaneous sensitivity to simple compounds. *Proc. Soc. Exper. Biol. Med.*, 1942, 49, p. 688.

40. Levin (A.-G.), Mc Donough (E.), Miller (D.-G.), Southam (C.-M.). — Delayed hypersensitivity response to D N F B in sick and healthy persons. *Ann. New York, Aca. Sci.*, 1964, 120, art. 1, pp. 401-409.

41. Mayer (R.-L.). — Die ursolidiosynkrasie des meerschweinchens. *Arch. f. Dermat. u. Syph.*, 1931, 163, pp. 223-244.

42. Migueres (J.), Abou (P.), Jover (A.), Garbarini (A.), Zerbib (J.). — Etude de certains aspects du comportement immunitaire au cours du cancer bronchique primitif. *Ann. Inst. Pasteur*, 1970, 119, p. 143.

43. Migueres (J.), Ducos (J.), Colombies (P.), Jover (A.), Abou (P.). Le test de transformation blastique des lymphocytes (T.T.B.) au cours du cancer bronchique primitif. *Ann. Inst. Pasteur*, 1970, 119, p. 142.

44. Moulias (R.) et Berthaux (P.). — Les populations cellulaires responsables de la réponse immunitaire. *Rev. Prat.*, 1971, *21*, 6.

45. Nezelov. — Les carences immunitaires. *Rev. Prat.*, 1971, *21*, 22, p. 3279.

46. Nilzen (A.). — Some endocrine aspects of skin sensitization and primary irritation. *J. Invest. Dermat.*, 1952, 18, pp. 7-35.

47. Odaka, Tazuko, Ofusi, Shigeo. — Specific inhibition of contact hypersensitivity. *Acta Dermatol. Kyoto.*, Engl. ed, 1967, *62*, 27, p. 9.

48. Renaud (M.). — Cuti-réaction à la tuberculine chez les cancéreux. *Bull. Mém. Soc. Méd. Hôp. Paris*, 1926, 50, p. 1441.

48 bis Sharma (O.-P.), James (D.-G.) Fox (R.-A.). — Corrélation entre l'hypersensibilité de type retardé et le test de transformation lymphoblastique au cours de la sarcoïdose. *Chest Diseases*, Juillet 71, *60*, 1.

49. Silk Mark. — Effect of plasma from patients with carcinoma in vitro lymphocyte transformation. *Cancer Res.*, 1967, *12*, 4, p. 2088.

50. Schnitzer (A.). — Investigations on mechanism of extension of eczematous sensitization. *Dermatologica*, 1941, 83, pp. 70-71.

51. Schreiber (W.) and Muller (W.). — Fundamental experiments on how sensitization speds in the epidermis. *Dermat. Wchnschr.*, 1938, 107, pp. 1393-1396.

52. Sulberger, Marion (B.). — Hypersensitiveness to arsphenamine in guinea-pigs. I. Experiments in prevention and in desensitization. *Arch. Derm. and Syph.*, 1929, 20, pp. 669-697.

53. Vinson (L.-J.), Singer (Ed.-J.), Borselli (V.-F.). — Route of penetration of allergens through guinea-pig skin. *Proc. Joint Conf. Cosmet. Sci.*, 1968, pp. 47-55.

54. Zeligman (I.). — Experimental contact dermatitis. I. Dinitrochlorobenzene contact dermatitis in guinea pigs. J. *Invest. Derm.*, 1954, 22, pp. 109-120.

55. Waldorf (D.-S.), Willkens (R.-F.), Decker (J.-L.). — Impaired delayed hypersensitivity in an aging population. *J.A.M.A.*, March 4, 1968, 203, 10.

56. Wedroff (N.-S.), Dolgoff (A.-P.). — Uber die specifische sensibilität der haut einfachen chemischen stoffen gagenüber. *Arch. f. Dermat. und Syph.*, 1935, 171, pp. 647-664.

Imprimerie « LA TYPO-LINO », 14, Rue Cujas — 31 - TOULOUSE